(19)日本国特許庁(JP)　(12)特　許　公　報(B2)　(11)特許番号
特許第5964004号
(P5964004)
(45)発行日　平成28年8月3日(2016.8.3)　(24)登録日　平成28年7月8日(2016.7.8)

(51)Int.Cl.　　F I
A61K 39/395 (2006.01)　　A61K 39/395 D
A61P 25/02 (2006.01)　　A61K 39/395 ZNAN
A61P 27/02 (2006.01)　　A61P 25/02 101
　　A61P 27/02

請求項の数 10　外国語出願　(全 86 頁)

(21)出願番号　特願2008-59313(P2008-59313)
(22)出願日　平成20年3月10日(2008.3.10)
(65)公開番号　特開2009-62358(P2009-62358A)
(43)公開日　平成21年3月26日(2009.3.26)
審査請求日　平成23年3月9日(2011.3.9)
審判番号　不服2014-19642(P2014-19642/J1)
審判請求日　平成26年10月1日(2014.10.1)
(31)優先権主張番号　60/894181
(32)優先日　平成19年3月9日(2007.3.9)
(33)優先権主張国　米国(US)
(31)優先権主張番号　12/041581
(32)優先日　平成20年3月3日(2008.3.3)
(33)優先権主張国　米国(US)

(73)特許権者　505129415
ライナット　ニューロサイエンス　コーポレイション
アメリカ合衆国　カリフォルニア　９４０８０，　サウス　サンフランシシコ，　イー．　グランド　アベニュー　２３０
(74)代理人　100133927
弁理士　四本　能尚
(72)発明者　チアーヤング　リン
アメリカ合衆国　９４３０３　カリフォルニア州　パロ・アルト市　ステリング・ドライブ　３０５５

最終頁に続く

(54)【発明の名称】眼科疾患を治療する方法

(57)【特許請求の範囲】
【請求項１】
Ａβ$_{1～40}$のＣ末端領域に特異的に結合する抗体を含む、加齢性黄斑変性症治療用医薬組成物。
【請求項２】
抗体が、Ａβ$_{1～42}$上のエピトープとも特異的に結合する請求項１に記載の医薬組成物。
【請求項３】
抗体が、１００ｎＭ以下のＫ$_{D}$でＡβ$_{1～40}$ペプチドと結合する請求項１に記載の医薬組成物。
【請求項４】
抗体が、１００ｎＭ以下のＫ$_{D}$でＡβ$_{1～42}$ペプチドとも結合する請求項３に記載の医薬組成物。
【請求項５】
抗体が、アミノ酸２５～３４および４０が含まれるＡβ$_{1～40}$上のエピトープと結合する請求項１に記載の医薬組成物。
【請求項６】
抗体のＦｃ領域が、Ｎ－グリコシル化されていないか、または天然Ｆｃ領域に関して変更されているＮ－グリコシル化パターンを有する請求項１に記載の医薬組成物。
【請求項７】

抗体が、配列番号２６に示す抗体６Ｇ重鎖可変領域由来の３個のＣＤＲを含む重鎖可変領域および配列番号２７に示す抗体６Ｇ軽鎖可変領域由来の３個のＣＤＲを含む軽鎖可変領域を含む請求項１に記載の医薬組成物。

【請求項８】

抗体が、配列番号２６に示すアミノ酸配列を含む重鎖可変領域および配列番号２７に示すアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む請求項１に記載の医薬組成物。

【請求項９】

Ａβ$_{1\sim40}$およびＡβ$_{1\sim42}$のＣ末端領域に特異的に結合する抗体を含む、加齢性黄斑変性症治療用医薬組成物。

【請求項１０】

抗体が、配列番号３６に示す重鎖および配列番号３７に示す軽鎖を含む請求項１に記載の医薬組成物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【０００１】

本出願は、２００７年３月９日に出願した米国仮出願第６０／８９４，１８１号の利益を主張する２００８年３月３日に出願した米国出願第１２／０４１，５８１号の利益を主張するものであり、それらの内容は、参照により全体として本明細書に組み込まれるものとする。

【０００２】

本発明は、加齢性黄斑変性症などの眼科疾患の治療および／または予防におけるばかりでなく、緑内障、糖尿病性網膜症（糖尿病性黄斑浮腫を含む）、脈絡膜新生血管膜（ＣＮＶ）、ブドウ膜炎、近視性変性、眼腫瘍、網膜中心静脈閉塞症、ルベオーシス、眼新血管新生、中心性漿液性網膜症、ドライアイなどの眼表面円板、網膜中心動脈閉塞症、類嚢胞黄斑浮腫およびその他の網膜変性疾患などの他の眼病変において、アミロイド－βペプチドに対する抗体を用いる方法に関する。

【背景技術】

【０００３】

米国において６５歳を超える人における最良矯正視力低下の最も一般的な原因は、加齢性黄斑変性症（ＡＭＤ）として知られている網膜障害である。ＡＭＤが進行するにつれて、この疾患は、鋭い中心視力の喪失を特徴とする。ＡＭＤによって影響を受ける眼の領域は、黄斑、すなわち、主に光受容体細胞からなる網膜の中心にある小さな領域である。いわゆる「萎縮型（ｄｒｙ）」ＡＭＤ（「ジオグラフィックアトロフィー」とも呼ばれる）は、ＡＭＤ患者の約８５％～９０％を占め、眼の色素分布の変化、光受容体の喪失および細胞の全体的な萎縮による網膜機能の低下が関わっている。いわゆる「滲出型（ｗｅｔ）」ＡＭＤは、網膜下腔における血塊または瘢痕につながる異常な脈絡膜血管の増殖が関わっている。したがって、滲出型ＡＭＤの発症は、神経網膜の下での異常な脈絡膜新生血管網の形成（脈絡膜新血管新生、ＣＮＶ）のために起こる。新たに形成された血管は、過度に漏出性である。このことは、視力の喪失につながる網膜下液および血液の蓄積につながる。最終的に、脈絡膜および網膜が関わる大きな円板状の瘢痕が形成するため、関係する領域における機能的網膜はすべて失われる。萎縮型ＡＭＤ患者は、質的に低下した視力を維持することができるが、滲出型ＡＭＤは、失明をもたらすことが多い（Ｈａｍｄｉおよびｋｅｎｎｅｙ、Ａｇｅ－ｒｅｌａｔｅｄ Ｍａｃｕｌａｒ ｄｅｇｅｎｅｒａｔｉｏｎ－ａ ｎｅｗ ｖｉｅｗｐｏｉｎｔ、Ｆｒｏｎｔｉｅｒｓ ｉｎ Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅ、ｅ３０５～３１４、２００３年５月）。ＣＮＶは、滲出型ＡＭＤにおいてばかりでなく、緑内障、糖尿病性網膜症（糖尿病性黄斑浮腫を含む）、ブルッフ膜における裂傷、近視性変性、眼腫瘍および他の関連する網膜変性疾患などの他の眼病変においても起きる。

【０００４】

ＡＭＤは、その病因が明らかに多因子性であり、その発症および進行において遺伝およ

び環境要因が役割を果たす一般的障害である。実施された様々な研究は、喫煙、加齢、家族歴（Ｍｉｌｔｏｎ、Ａｍ Ｊ Ｏｐｈｔｈａｌｍｏｌ ８８、２６９（１９７９）；Ｍｉｔｃｈｅｌｌ他、Ｏｐｈｔｈａｌｍｏｌｏｇｙ １０２、１４５０～１４６０（１９９５）；Ｓｍｉｔｈ他、Ｏｐｈｔｈａｌｍｏｌｏｇｙ １０８、６９７～７０４（２００１））性別（女性において７倍高い可能性：Ｋｌｅｉｎ他、Ｏｐｈｔｈａｌｍｏｌｏｇｙ ９９、９３３～９４３（１９９２））および人種（白人は最も罹患しやすい）などのＡＭＤのいくつかの危険因子を突き止めた。さらなる危険因子には、遠視（ｆａｒｓｉｇｈｔｅｄｎｅｓｓ）（遠視（ｈｙｐｅｒｏｐｉａ））および淡色の眼などの眼の特徴、ならびに心血管疾患および高血圧症が含まれることがある。この疾患の発症進行における遺伝の関与の証拠も立証されている（上記のＨａｍｄｉおよびＫｅｎｎｅｙを参照）。

【特許文献１】米国仮出願第６０／８９４，１８１号
【特許文献２】米国出願第１２／０４１，５８１号
【非特許文献１】ＨａｍｄｉおよびＫｅｎｎｅｙ、Ａｇｅ－ｒｅｌａｔｅｄ Ｍａｃｕｌａｒ ｄｅｇｅｎｅｒａｔｉｏｎ－ａ ｎｅｗ ｖｉｅｗｐｏｉｎｔ、Ｆｒｏｎｔｉｅｒｓ ｉｎ Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅ、ｅ３０５～３１４、２００３年５月
【非特許文献２】Ｍｉｌｔｏｎ、Ａｍ Ｊ Ｏｐｈｔｈａｌｍｏｌ ８８、２６９（１９７９）
【非特許文献３】Ｍｉｔｃｈｅｌｌ他、Ｏｐｈｔｈａｌｍｏｌｏｇｙ １０２、１４５０～１４６０（１９９５）
【非特許文献４】Ｓｍｉｔｈ他、Ｏｐｈｔｈａｌｍｏｌｏｇｙ １０８、６９７～７０４（２００１）
【非特許文献５】Ｋｌｅｉｎ他、Ｏｐｈｔｈａｌｍｏｌｏｇｙ ９９、９３３～９４３（１９９２）
【非特許文献６】Ｍａｌｅｋ他（ＰＮＡＳ １０２、１１９００～５（２００５））
【非特許文献７】Ｅｕｒ．Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．（１９９９）２９：２６１３～２６２４
【特許文献３】ＰＣＴ出願第ＰＣＴ／ＧＢ９９／０１４４１号
【特許文献４】英国特許出願第９８０９９５１．８号
【非特許文献８】Ｙｏｓｈｉｄａ，Ｔ．他、Ｊ．ｏｆ Ｃｌｉｎ．Ｉｎｖｅｓｔ．、１１５（１０）：２７９３～２８００（２００５）
【非特許文献９】Ａｎｄｅｒｓｏｎ，Ｄ．他、Ｅｘｐｅｒｉｍｅｎｔａｌ Ｅｙｅ Ｒｅｓｅａｒｃｈ ７８：２４３～２５６（２００４）
【非特許文献１０】Ｊｏｈｎｓｏｎ，Ｌ．他、ＰＮＡＳ、９９（１８）：１１８２０～１１８３５（２００２）
【非特許文献１１】ＭｃＫｉｎｎｏｎ ＳＪ、Ｆｒｏｎｔ Ｂｉｏｓｃｉ ８：１１４０～５６（２００３）
【非特許文献１２】Ｔａｔｔｏｎ他、Ｓｕｒｖ Ｏｐｈｔｈａｌｍｏｌ．４８：Ｓ２５～３７（２００３）
【非特許文献１３】ＭｃＧｏｗａｎ，Ｅ．他、Ｎｅｕｒｏｎ ４７：１９１～１９９（２００５）
【非特許文献１４】Ｋｉｍ，Ｊ．他、Ｎｅｕｒｏｂｉｏｌｏｇｙ ｏｆ Ｄｉｓｅａｓｅ、２７（３）：６２７～６３３（２００７）
【特許文献５】ＷＯ２００６０３６２９１
【特許文献６】ＷＯ２００６１１８９５９
【非特許文献１５】Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｃｌｏｎｉｎｇ：Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ、第２版（Ｓａｍｂｒｏｏｋ他、１９８９）Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ Ｐｒｅｓｓ
【非特許文献１６】Ｏｌｉｇｏｎｕｃｌｅｏｔｉｄｅｓ Ｓｙｎｔｈｅｓｉｓ（Ｍ．Ｊ．Ｇａｔｔ編、１９８４）
【非特許文献１７】Ｍｅｔｈｏｄｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ、Ｈｕｍａｎａ Ｐｒｅｓｓ

【非特許文献１８】Ｃｅｌｌ Ｂｉｏｌｏｇｙ：Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｎｏｔｅｂｏｏｋ（Ｊ．Ｅ．Ｃｅｌｌｉｓ編、１９９８）Ａｃａｄｅｍｉｃ Ｐｒｅｓｓ
【非特許文献１９】Ａｎｉｍａｌ Ｃｅｌｌ Ｃｕｌｔｕｒｅ（Ｒ．Ｉ．Ｆｒｅｓｈｎｅｙ編、１９８７）
【非特許文献２０】Ｉｎｔｒｏｄｕｃｔｉｏｎ ｔｏ Ｃｅｌｌ ａｎｄ Ｔｉｓｓｕｅ Ｃｕｌｔｕｒｅ（Ｊ．Ｐ．ＭａｔｈｅｒおよびＰ．Ｅ．Ｒｏｂｅｒｔｓ、１９９８）Ｐｌｅｎｕｍ Ｐｒｅｓｓ
【非特許文献２１】Ｃｅｌｌ ａｎｄ Ｔｉｓｓｕｅ Ｃｕｌｔｕｒｅ：Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｐｒｏｃｅｄｕｒｅｓ（Ａ．Ｄｏｙｌｅ、Ｊ．Ｂ．Ｇｒｉｆｆｉｔｈｓ、およびＤ．Ｇ．Ｎｅｗｅｌｌ編、１９９３～１９９８）Ｊ．Ｗｉｌｅｙ ａｎｄ Ｓｏｎｓ
【非特許文献２２】Ｍｅｔｈｏｄｓ ｉｎ Ｅｎｚｙｍｏｌｏｇｙ（Ａｃａｄｅｍｉｃ Ｐｒｅｓｓ，Ｉｎｃ．）
【非特許文献２３】Ｈａｎｄｂｏｏｋ ｏｆ Ｅｘｐｅｒｉｍｅｎｔａｌ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ（Ｄ．Ｍ．ＷｅｉｒおよびＣ．Ｃ．Ｂｌａｃｋｗｅｌｌ編）
【非特許文献２４】Ｇｅｎｅ Ｔｒａｎｓｆｅｒ Ｖｅｃｔｏｒｓ ｆｏｒ Ｍａｍｍａｌｉａｎ Ｃｅｌｌｓ（Ｊ．Ｍ．ＭｉｌｌｅｒおよびＭ．Ｐ．Ｃａｌｏｓ編、１９８７）
【非特許文献２５】Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ（Ｆ．Ｍ．Ａｕｓｕｂｅｌ他編、１９８７）
【非特許文献２６】ＰＣＲ：Ｔｈｅ Ｐｏｌｙｍｅｒａｓｅ Ｃｈａｉｎ Ｒｅａｃｔｉｏｎ、（Ｍｕｌｌｉｓ他編、１９９４）
【非特許文献２７】Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ（Ｊ．Ｅ．Ｃｏｌｉｇａｎ他編、１９９１）
【非特許文献２８】Ｓｈｏｒｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ（Ｗｉｌｅｙ ａｎｄ Ｓｏｎｓ、１９９９）
【非特許文献２９】Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ（Ｃ．Ａ．ＪａｎｅｗａｙおよびＰ．Ｔｒａｖｅｒｓ、１９９７）
【非特許文献３０】Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ（Ｐ．Ｆｉｎｃｈ、１９９７）；Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ：ａ ｐｒａｃｔｉｃａｌ ａｐｐｒｏａｃｈ（Ｄ．Ｃａｔｔｙ．編、ＩＲＬ Ｐｒｅｓｓ、１９８８～１９８９）
【非特許文献３１】Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ：ａ ｐｒａｃｔｉｃａｌ ａｐｐｒｏａｃｈ（Ｐ．ＳｈｅｐｈｅｒｄおよびＣ．Ｄｅａｎ編、Ｏｘｆｏｒｄ Ｕｎｉｖｅｒｓｉｔｙ Ｐｒｅｓｓ、２０００）
【非特許文献３２】Ｕｓｉｎｇ ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ：ａ ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ ｍａｎｕａｌ（Ｅ．ＨａｒｌｏｗおよびＤ．Ｌａｎｅ（Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｐｒｅｓｓ、１９９９）
【非特許文献３３】Ｔｈｅ Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ（Ｍ．ＺａｎｅｔｔｉおよびＪ．Ｄ．Ｃａｐｒａ編、Ｈａｒｗｏｏｄ Ａｃａｄｅｍｉｃ Ｐｕｂｌｉｓｈｅｒｓ、１９９５）
【非特許文献３４】ＫｏｈｌｅｒおよびＭｉｌｓｔｅｉｎ、１９７５、Ｎａｔｕｒｅ、２５６：４９５
【特許文献７】米国特許第４，８１６，５６７号
【非特許文献３５】ＭｃＣａｆｆｅｒｔｙ他、１９９０、Ｎａｔｕｒｅ、３４８：５５２～５５４
【特許文献８】ＰＣＴ公開ＷＯ９９／５８５７２
【非特許文献３６】Ｖａｕｇｈａｎ他、１９９６、Ｎａｔｕｒｅ Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ、１４：３０９～３１４
【非特許文献３７】Ｓｈｅｅｔｓ他、１９９８、ＰＮＡＳ、（ＵＳＡ）９５：６１５７～６１６２
【非特許文献３８】ＨｏｏｇｅｎｂｏｏｍおよびＷｉｎｔｅｒ、１９９１、Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．、２２７：３８１
【非特許文献３９】Ｍａｒｋｓ他、１９９１、Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．、２２２：５８１

【特許文献９】米国特許第５，５４５，８０７号
【特許文献１０】米国特許第５，５４５，８０６号
【特許文献１１】米国特許第５，５６９，８２５号
【特許文献１２】米国特許第５，６２５，１２６号
【特許文献１３】米国特許第５，６３３，４２５号
【特許文献１４】米国特許第５，６６１，０１６号
【非特許文献４０】Ｃｏｌｅ他、Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ ａｎｄ Ｃａｎｃｅｒ Ｔｈｅｒａｐｙ、Ａｌａｎ Ｒ．Ｌｉｓｓ、ｐ．７７（１９８５）
【非特許文献４１】Ｂｏｅｒｎｅｒ他、１９９１、Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．、１４７（１）：８６～９５
【特許文献１５】米国特許第５，７５０，３７３号
【非特許文献４２】Ｋａｂａｔ他 Ｓｅｑｕｅｎｃｅｓ ｏｆ Ｐｒｏｔｅｉｎｓ ｏｆ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｉｃａｌ Ｉｎｔｅｒｅｓｔ、（第５版、１９９１、Ｎａｔｉｏｎａｌ Ｉｎｓｔｉｔｕｔｅｓ ｏｆ Ｈｅａｌｔｈ、Ｂｅｔｈｅｓｄａ ＭＤ）
【非特許文献４３】Ａｌ－ｌａｚｉｋａｎｉ他（１９９７）Ｊ．Ｍｏｌｅｃ．Ｂｉｏｌ．２７３：９２７～９４８
【非特許文献４４】ＲａｖｅｔｃｈおよびＫｉｎｅｔ、１９９１、Ａｎｎ．Ｒｅｖ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．、９：４５７～９２
【非特許文献４５】Ｃａｐｅｌ他、１９９４、Ｉｍｍｕｎｏｍｅｔｈｏｄｓ、４：２５～３４
【非特許文献４６】ｄｅ Ｈａａｓ他、１９９５、Ｊ．Ｌａｂ．Ｃｌｉｎ．Ｍｅｄ．、１２６：３３０～４１
【非特許文献４７】Ｇｕｙｅｒ他、１９７６、Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．、１１７：５８７
【非特許文献４８】Ｋｉｍ他、１９９４、Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．、２４：２４９
【非特許文献４９】Ｇａｚｚａｎｏ－Ｓａｎｔｏｒｏ他、Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．Ｍｅｔｈｏｄｓ、２０２：１６３（１９９６）
【特許文献１６】米国特許第５，５００，３６２号
【特許文献１７】米国特許第５，８２１，３３７号
【非特許文献５０】Ｃｌｙｎｅｓ他、１９９８、ＰＮＡＳ（ＵＳＡ）、９５：６５２～６５６
【非特許文献５１】Ｒｅｍｉｎｇｔｏｎ’ｓ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ Ｓｃｉｅｎｃｅｓ、第１８版、Ａ．Ｇｅｎｎａｒｏ編、Ｍａｃｋ Ｐｕｂｌｉｓｈｉｎｇ Ｃｏ．、Ｅａｓｔｏｎ、ＰＡ、１９９０
【非特許文献５２】Ｒｅｍｉｎｇｔｏｎ、Ｔｈｅ Ｓｃｉｅｎｃｅ ａｎｄ Ｐｒａｃｔｉｃｅ ｏｆ Ｐｈａｒｍａｃｙ第２０版、Ｍａｃｋ Ｐｕｂｌｉｓｈｉｎｇ、２０００
【特許文献１８】米国特許第５，８０７，７１５号
【特許文献１９】米国特許第６，３３１、４１５号
【非特許文献５３】Ｂｉｒｄ他（１９８８）Ｓｃｉｅｎｃｅ ２４２：４２３～４２６
【非特許文献５４】Ｈｏｌｌｉｇｅｒ，Ｐ．他（１９９３）Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ Ｓｃｉ．ＵＳＡ ９０：６４４４～６４４８
【非特許文献５５】Ｐｏｌｊａｋ，Ｒ．Ｊ．他（１９９４）Ｓｔｒｕｃｔｕｒｅ ２：１１２１～１１２３
【非特許文献５６】Ｓｕｒｅｓｈ他、１９８６、Ｍｅｔｈｏｄｓ ｉｎ Ｅｎｚｙｍｏｌｏｇｙ １２１：２１０
【非特許文献５７】ＭｉｌｌｓｔｅｉｎおよびＣｕｅｌｌｏ、１９８３、Ｎａｔｕｒｅ ３０５、５３７～５３９
【特許文献２０】ＰＣＴ公開ＷＯ９４／０４６９０
【特許文献２１】米国特許第４，６７６，９８０号
【特許文献２２】ＰＣＴ出願公開ＷＯ９１／００３６０
【特許文献２３】ＰＣＴ出願公開ＷＯ９２／２００３７３

【特許文献２４】ＥＰ０３０８９
【特許文献２５】米国特許第５，８６６，６９２号
【特許文献２６】米国特許第５，５３０，１０１号
【特許文献２７】米国特許第５，６９３，７６１号
【特許文献２８】米国特許第５，６９３，７６２号
【特許文献２９】米国特許第５，５８５，０８９号
【特許文献３０】米国特許第６，１８０，３７０号
【特許文献３１】米国特許第５，２２５，５３９号
【特許文献３２】米国特許第６，５４８，６４０号
【特許文献３３】米国特許第５，９９７，８６７号
【非特許文献５８】ＪｅｆｆｅｒｉｓおよびＬｕｎｄ、１９９７、Ｃｈｅｍ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．６５：１１１～１２８
【非特許文献５９】ＷｒｉｇｈｔおよびＭｏｒｒｉｓｏｎ、１９９７、ＴｉｂＴＥＣＨ １５：２６～３２
【非特許文献６０】Ｂｏｙｄ他、１９９６、Ｍｏｌ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．３２：１３１１～１３１８
【非特許文献６１】ＷｉｔｔｗｅおよびＨｏｗａｒｄ、１９９０、Ｂｉｏｃｈｅｍ．２９：４１７５～４１８０
【非特許文献６２】ＷｙｓｓおよびＷａｇｎｅｒ、１９９６、Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｏｐｉｎ．Ｂｉｏｔｅｃｈ．７：４０９～４１６
【非特許文献６３】Ｕｍａｎａ他、１９９９、Ｍａｔｕｒｅ Ｂｉｏｔｅｃｈ．１７：１７６～１８０
【非特許文献６４】Ｈｓｅ他、１９９７、Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．２７２：９０６２～９０７０
【特許文献３４】米国特許第５，０４７，３３５号
【特許文献３５】米国特許第５，５１０，２６１号
【特許文献３６】米国特許第５，２７８，２９９号
【非特許文献６５】Ｍｏｒｇａｎ他、Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ ８６：３１９～３２４（１９９５）
【非特許文献６６】Ｌｕｎｄ他、Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ １５７：４９６３～９ １５７：４９６３～４９６９（１９９６）
【非特許文献６７】Ｉｄｕｓｏｇｉｅ他、Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ １６４：４１７８～４１８４（２０００）
【非特許文献６８】Ｔａｏ他、Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ １４３：２５９５～２６０１（１９８９）
【非特許文献６９】Ｊｅｆｆｅｒｉｓ他、Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｉｃａｌ Ｒｅｖｉｅｗｓ １６３：５９～７６（１９９８）
【非特許文献７０】Ｍａｒｋｓ他、１９９２、Ｂｉｏ／Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ、１０：７７９～７８３
【非特許文献７１】Ｂａｒｂａｓ他、１９９４、Ｐｒｏｃ Ｎａｔ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ、ＵＳＡ ９１：３８０９～３８１３
【非特許文献７２】Ｓｃｈｉｅｒ他、１９９５、Ｇｅｎｅ、１６９：１４７～１５５
【非特許文献７３】Ｙｅｌｔｏｎ他、１９９５、Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．、１５５：１９９４～２００４
【非特許文献７４】Ｊａｃｋｓｏｎ他、１９９５、Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．、１５４（７）：３３１０～９
【非特許文献７５】Ｈａｗｋｉｎｓ他、１９９２、Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．、２２６：８８９～８９６
【特許文献３７】ＷＯ２００４／０５８１８４
【非特許文献７６】Ｂａｌｉｎｔ他、（１９９３）Ｇｅｎｅ １３７（１）：１０９～１

8
【非特許文献７７】Ｗｒｉｇｈｔ他、Ｊ Ｉｍｍｕｎｏｌ．１６０（７）：３３９３～４０２（１９９８）
【非特許文献７８】Ａｒｍｏｕｒ他、Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ ４０：５８５～５９３（２００３）
【非特許文献７９】Ｒｅｄｄｙ他、Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ １６４：１９２５～１９３３（２０００）
【非特許文献８０】Ｄｕｎｃａｎ他、Ｎａｔｕｒｅ ３２２：７３８～７４０（１９８８）
【非特許文献８１】Ｃａｎｆｉｅｌｄ他、Ｊ．Ｅｘｐ．Ｍｅｄ．１７３：１４８３～１４９１（１９９１）
【非特許文献８２】Ｈｅｚａｒｅｈ他、Ｊ．Ｖｉｒｏｌ．７５：１２１６１～１２１６８（２００１）
【非特許文献８３】Ｒｅｄｐａｔｈ他、Ｈｕｍａｎ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ ５９：７２０～７２７（１９９８）
【特許文献３８】米国特許第５，６７７，４２５号
【非特許文献８４】Ｏｍｉｄｆａｒ他、Ｔｕｍｏｕｒ Ｂｉｏｌ．２５：２９６～３０５（２００４）
【非特許文献８５】Ｈｅｒｒｉｎｇ他、Ｔｒｅｎｄｓ ｉｎ Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ ２１：４８４～４８９（２００３）
【非特許文献８６】Ｓｏｎｇ他、Ｉｎｆｅｃｔｉｏｎ ａｎｄ Ｉｍｍｕｎｉｔｙ ７０：５１７７～５１８４（２００２）
【非特許文献８７】Ｙｏｃｕｍ他、Ｊ．Ｐｈｅｕｍａｔｏｌ．２５：１２５７～６２（１９９８）
【非特許文献８８】Ｂｕｇｅｌｓｋｉ他、Ｈｕｍａｎ ＆ Ｅｘｐｅｒｉｍｅｎｔａｌ Ｔｏｘｉｃｏｌｏｙ １９：２３０～２４３（２０００）
【非特許文献８９】Ｎａｎｕｓ他、Ｊ．Ｕｒｏｌｏｇｙ １７０：Ｓ８４～Ｓ８９（２００３）
【特許文献３９】ＷＯ０３／１０４４３７
【特許文献４０】米国公開第２００３／０１４７８８７号
【特許文献４１】米国公開第２００４／０２１９１４６号
【特許文献４２】米国公開第２００３／０１６５４９６号
【特許文献４３】米国公開第２００４／００８７７７７号
【特許文献４４】ＰＣＴ ＷＯ２００４／０３２８６８
【特許文献４５】米国２００４／０１４６５１２
【非特許文献９０】Ｄａｙｈｏｆｆ，Ｍ．Ｏ．（編）Ａｔｌａｓ ｏｆ Ｐｒｏｔｅｉｎ Ｓｅｑｕｅｎｃｅ ａｎｄ Ｓｔｒｕｃｔｕｒｅ、Ｎａｔｉｏｎａｌ Ｂｉｏｍｅｄｉｃａｌ Ｒｅｓｅａｒｃｈ Ｆｏｕｎｄａｔｉｏｎ、Ｗａｓｈｉｎｇｔｏｎ ＤＣ 第５巻、Ｓｕｐｐｌ．３、３４５～３５８ページ中のＤａｙｈｏｆｆ，Ｍ．Ｏ．（１９７８）Ａ ｍｏｄｅｌ ｏｆ ｅｖｏｌｕｔｉｏｎａｒｙ ｃｈａｎｇｅ ｉｎ ｐｒｏｔｅｉｎｅｓ－Ｍａｔｒｉｃｅｓ ｆｏｒ ｄｅｔｅｃｔｉｎｇ ｄｉｓｔａｎｔ ｒｅｌａｔｉｏｎｓｈｉｐｓ
【非特許文献９１】Ｈｅｉｎ Ｊ．、１９９０、Ｕｎｉｆｉｅｄ Ａｐｐｒｏａｃｈ ｔｏ Ａｌｉｇｎｍｅｎｔ ａｎｄ Ｐｈｙｌｏｇｅｎｅｓ ６２６～６４５ページ Ｍｅｔｈｏｄｓ ｉｎ Ｅｎｚｙｍｏｌｏｇｙ 第１８３巻、Ａｃａｄｅｍｉｃ Ｐｒｅｓｓ，Ｉｎｃ．、Ｓａｎ Ｄｉｅｇｏ、ＣＡ
【非特許文献９２】Ｈｉｇｇｉｎｓ，Ｄ．Ｇ．およびＳｈａｒｐ，Ｐ．Ｍ．、１９８９、ＣＡＢＩＯＳ ５：１５１～１５３；
【非特許文献９３】Ｍｙｅｒｓ，Ｅ．Ｗ．およびＭｕｌｌｅｒ Ｗ．、１９８８、ＣＡＢＩＯＳ ４：１１～１７

【非特許文献９４】Ｒｏｂｉｎｓｏｎ，Ｅ．Ｄ．、１９７１、Ｃｏｍｂ．Ｔｈｅｏｒ．１１：１０５
【非特許文献９５】Ｓａｎｔｏｕ，Ｎ，、Ｎｅｓ，Ｍ．、１９８７、Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．Ｅｖｏｌ．４：４０６～４２５
【非特許文献９６】Ｓｎｅａｔｈ，Ｐ．Ｈ．Ａ．およびＳｏｋａｌ，Ｒ．Ｒ．、１９７３、Ｎｕｍｅｒｉｃａｌ Ｔａｘｏｎｏｍｙ ｔｈｅ Ｐｒｉｎｃｉｐｌｅｓ ａｎｄ Ｐｒａｃｔｉｃｅ ｏｆ Ｎｕｍｅｒｉｃａｌ Ｔａｘｏｎｏｍｙ、Ｆｒｅｅｍａｎ Ｐｒｅｓｓ、Ｓａｎ Ｆｒａｎｃｉｓｃｏ、ＣＡ
【非特許文献９７】Ｗｉｌｂｕｒ，Ｗ．Ｊ．およびＬｉｐｍａｎ，Ｄ．Ｊ．、１９８３、Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ８０：７２６～７３０
【特許文献４６】ＰＣＴ公開ＷＯ８７／０４４６２
【非特許文献９８】Ｚｏｌａ、Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ：Ａ Ｍａｎｕａｌ ｏｆ Ｔｅｃｈｎｉｑｕｅｓ、１４７～１５８ページ（ＣＲＣ Ｐｒｅｓｓ，Ｉｎｃ．１９８７）
【非特許文献９９】Ｔｏｌｅｎｔｉｎｏ他、Ｒｅｔｉｎａ ２４（２００４）１３２～１３８
【非特許文献１００】Ｒｅｉｃｈ他、Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ ｖｉｓｉｏｎ ９（２００３）２１０～２１６
【非特許文献１０１】Ｈａｎｄｂｏｏｋ ｏｆ Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ、Ｆｅｒｒｏｎｅ他編、Ｎｏｇｅｓ Ｐｕｂｌｉｃａｔｉｏｎｓ、Ｐａｒｋ Ｒｉｄｇｅ、Ｎ．Ｊ．、１９８５、ｃｈ．２２および３０３～３５７ページ
【非特許文献１０２】Ｓｍｉｔｈ他、Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ ｉｎ Ｈｕｍａｎ Ｄｉａｇｎｏｓｉｓ ａｎｄ Ｔｈｅｒａｐｙ、Ｈａｂｅｒ他編、Ｒａｖｅｎ Ｐｒｅｓｓ、Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ、１９７７、３６５～３８９ページ
【特許文献４７】米国特許第６，４３６，９０８号
【特許文献４８】米国特許第６，４１３，９４２号
【特許文献４９】米国特許第６，３７６，４７１号
【非特許文献１０３】Ｆｉｎｄｅｉｓ他、Ｔｒｅｎｄｓ Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ．（１９９３）１１：２０２
【非特許文献１０４】Ｃｈｉｏｕ他、Ｇｅｎｅ Ｔｈｅｒａｐｅｕｔｉｃｓ：Ｍｅｔｈｏｄｓ Ａｎｄ Ａｐｐｌｉｃａｔｉｏｎｓ Ｏｆ Ｄｉｒｅｃｔ Ｇｅｎｅ Ｔｒａｎｓｆｅｒ（Ｊ．Ａ．Ｗｏｌｆｆ編）（１９９４）
【非特許文献１０５】Ｗｕ他、Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．（１９８８）２６３：６２１
【非特許文献１０６】Ｗｕ他、Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．（１９９４）２６９：５４２
【非特許文献１０７】Ｚｅｎｋｅ他、Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．（ＵＳＡ）（１９９０）８７：３６５５
【非特許文献１０８】Ｗｕ他、Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．（１９９１）２６６：３３８
【非特許文献１０９】Ｊｏｌｌｙ、Ｃａｎｃｅｒ Ｇｅｎｅ Ｔｈｅｒａｐｙ（１９９４）１：５１
【非特許文献１１０】Ｋｉｍｕｒａ、Ｈｕｍａｎ Ｇｅｎｅ Ｔｈｅｒａｐｙ（１９９４）５：８４５
【非特許文献１１１】Ｃｏｎｎｅｌｌｙ、Ｈｕｍａｎ Ｇｅｎｅ Ｔｈｅｒａｐｙ（１９９５）１：１８５
【非特許文献１１２】Ｋａｐｌｉｔｔ、Ｎａｔｕｒｅ Ｇｅｎｅｔｉｃｓ（１９９４）６：１４８
【特許文献５０】ＰＣＴ公開ＷＯ９０／０７９３６
【特許文献５１】ＰＣＴ公開ＷＯ９４／０３６２２
【特許文献５２】ＰＣＴ公開ＷＯ９３／２５６９８
【特許文献５３】ＰＣＴ公開ＷＯ９３／２５２３４
【特許文献５４】ＰＣＴ公開ＷＯ９３／１１２３０

【特許文献５５】ＰＣＴ公開ＷＯ９３／１０２１８
【特許文献５６】ＰＣＴ公開ＷＯ９１／０２８０５
【特許文献５７】米国特許第５，２１９，７４０号
【特許文献５８】米国特許第４，７７７，１２７号
【特許文献５９】英国特許第２，２００，６５１号
【特許文献６０】ＥＰ０３４５２４２
【特許文献６１】ＰＣＴ公開ＷＯ９４／１２６４９
【特許文献６２】ＰＣＴ公開ＷＯ９３／０３７６９
【特許文献６３】ＰＣＴ公開ＷＯ９３／１９１９１
【特許文献６４】ＰＣＴ公開ＷＯ９４／２８９３８
【特許文献６５】ＰＣＴ公開ＷＯ９５／１１９８４
【特許文献６６】ＰＣＴ公開ＷＯ９５／００６５５
【非特許文献１１３】Ｃｕｒｉｅｌ、Ｈｕｍ．Ｇｅｎｅ　Ｔｈｅｒ．（１９９２）３：１４７
【非特許文献１１４】Ｗｕ、Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．（１９８９）２６４：１６９８５
【特許文献６７】米国特許第５，８１４，４８２号
【特許文献６８】ＰＣＴ公開ＷＯ９５／０７９９４
【特許文献６９】ＰＣＴ公開ＷＯ９６／１７０７２
【特許文献７０】ＰＣＴ公開ＷＯ９５／３０７６３
【特許文献７１】ＰＣＴ公開ＷＯ９７／４２３３８
【特許文献７２】ＰＣＴ公開ＷＯ９０／１１０９２
【特許文献７３】米国特許第５，５８０，８５９号
【特許文献７４】米国特許第５，４２２，１２０号
【特許文献７５】ＰＣＴ公開ＷＯ９５／１３７９６
【特許文献７６】ＰＣＴ公開ＷＯ９４／２３６９７
【特許文献７７】ＰＣＴ公開ＷＯ９１／１４４４５
【特許文献７８】ＥＰ０５２４９６８
【非特許文献１１５】Ｐｈｉｌｉｐ、Ｍｏｌ．Ｃｅｌｌ　Ｂｉｏｌ．（１９９４）１４：２４１１
【非特許文献１１６】Ｗｏｆｆｅｎｄｉｎ、Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．（１９９４）９１：１５８１
【非特許文献１１７】Ｋａｒｌｓｓｏｎ，Ｒ．Ｒｏｏｓ、Ｈ．Ｆａｇｅｒｓｔａｍ、Ｌ．Ｐｅｔｅｒｓｓｏｎ，Ｂ．（１９９４）．Ｍｅｔｈｏｄｓ　Ｅｎｚｙｍｏｌｏｇｙ　６．９９～１１０
【非特許文献１１８】Ｇｅｅｒｌｉｇｓ　ＨＪ他、１９８９、Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．Ｍｅｔｈｏｄｓ　１２４：９５～１０２
【非特許文献１１９】Ｋｅｎｎｅｙ　ＪＳ他、１９８９、Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．Ｍｅｔｈｏｄｓ　１２１：１５７～１６６
【非特許文献１２０】Ｗｉｃｈｅｒ　Ｋ他、１９８９、Ｉｎｔ．Ａｒｃｈ．Ａｌｌｅｒｇｙ　Ａｐｐｌ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．８９：１２８～１３５
【特許文献７９】米国出願第１０／６８３，８１５号
【特許文献８０】ＰＣＴ／ＵＳ０３／３２０８０
【非特許文献１２１】Ｋｏｎｉｇ，Ｇ．他、Ａｎｎａｌｓ　Ｎｅｗ　Ｙｏｒｋ　Ａｃａｄｅｍｙ　ｏｆ　Ｓｃｉｅｎｃｅｓ．７７７：３４４～５５（１９９６）
【非特許文献１２２】Ｇａｍｅｓ，Ｄ．他　Ｎａｔｕｒｅ　３７３：５２３～５２７（１９９５）
【発明の開示】
【発明が解決しようとする課題】
【０００５】
現在、ＡＭＤを研究するための一般的に許容できる動物モデルは存在しない。Ｍａｌｅ

ｋ他（ＰＮＡＳ　１０２、１１９００～５（２００５））による初期の研究は、組み合わされた場合に、ヒトＡＭＤの形態学的特徴に近似している、３つの危険因子を有する動物モデルを作り出した。意味深いことに、このマウスモデルの開発は、ＡＭＤの新規な分子機構および治療標的をテストするための機会を提供した。加齢性黄斑変性症（滲出型と萎縮型の双方）、緑内障、糖尿病性網膜症（糖尿病性黄斑浮腫を含む）、脈絡膜新生血管膜（ＣＮＶ）、ブドウ膜炎、近視性変性、眼腫瘍、網膜中心静脈閉塞症、ルベオーシス、眼新血管新生、中心性漿液性網膜症、ドライアイなどの眼表面円板、網膜中心動脈閉塞症、類嚢胞黄斑浮腫および他の網膜変性疾患などの眼科疾患を治療および／または予防することができる新規な標的および治療薬を同定する必要性が残っている。

【課題を解決するための手段】

【０００６】

本発明は、眼科疾患の病因に関与している新規な治療標的を開示する。特に、本発明は、眼科疾患を治療する方法であって、有効量の阻害薬β－アミロイド（Ａβ）ペプチドを対象に投与することを含む方法を開示する。Ａβ阻害薬は、加齢性黄斑変性症（滲出型「ＡＭＤ」と萎縮型「ＡＭＤ」の双方）、緑内障、糖尿病性網膜症（糖尿病性黄斑浮腫を含む）、脈絡膜新生血管膜（ＣＮＶ）、ブドウ膜炎、近視性変性、眼腫瘍、網膜中心静脈閉塞症、ルベオーシス、眼新血管新生、中心性漿液性網膜症、ドライアイなどの眼表面円板、網膜中心動脈閉塞症、類嚢胞黄斑浮腫および他の網膜変性疾患などの眼科疾患に罹患している対象において投与することができる。一実施形態において、阻害薬は、抗体、アンチセンス分子、ｓｉＲＮＡ分子、リボザイム、または小分子化合物である。

【０００７】

一実施形態において、本発明は、加齢性黄斑変性症に罹患している対象を治療する方法であって、治療有効量のβ－アミロイド（Ａβ）ペプチドの阻害薬を含む医薬組成物を対象に投与することを含む方法を提供する。本発明の別の実施形態は、加齢性黄斑変性症（ＡＭＤ）に罹患している対象を治療する方法であって、治療有効量のＡβ阻害薬を含む医薬組成物を対象に投与することを含む方法に関する。

【０００８】

本発明の追加実施形態は、ＡＭＤに罹患している患者において回復を促進するための医薬品を調製するための治療有効量のＡβ阻害薬の使用を提供する。この実施形態の一態様において、抗体は、エフェクター機能障害を有するＦｃ領域を含む。この実施形態の他の態様において、疾患は、滲出型ＡＭＤと萎縮型ＡＭＤの双方を含むＡＭＤである。

【０００９】

本発明は、Ａβのアミロイド沈着を伴う疾患を治療または予防する方法であって、Ａβペプチドまたは凝集形態のＡβペプチドと特異的に結合する抗体を含む有効用量の医薬組成物を対象に投与することを含む方法も提供する。この実施形態の他の態様において、抗体は、天然に存在するＦｃ領域からの変異のあるＦｃ領域を含み、その変異は、エフェクター機能障害をもたらす。一部の実施形態において、抗体の投与は、変異のない抗体の投与よりも脳の微小出血を引き起こすことが少ない。

【００１０】

本発明の方法に使用される抗体およびポリペプチドは、Ａβペプチドまたは凝集形態のＡβペプチドと特異的に結合する。一実施形態において、抗体またはポリペプチドは、エフェクター機能障害を有する。一部の実施形態において、抗体またはポリペプチドは、Ｆ（ａｂ’）$_2$フラグメントではない。一部の実施形態において、抗体またはポリペプチドは、Ｆａｂフラグメントではない。一部の実施形態において、抗体またはポリペプチドは、単鎖抗体ｓｃＦｖではない。

【００１１】

Ａβペプチドまたは凝集形態のＡβペプチドと特異的に結合し、エフェクター機能障害を有する重鎖定常領域を含むポリペプチドも、本明細書に記載されている方法のうちのいずれかに使用することができる。一部の実施形態において、ポリペプチドは、表３または表８に示す抗体９ＴＬ、６Ｇまたはそれらの変異体に由来する配列（例えば、１個または

複数のＣＤＲ）を含む。

【００１２】

一部の実施形態において、抗体またはポリペプチドは、エフェクター機能障害を有する重鎖定常領域を含み、重鎖定常領域は、Ｆｃ領域を含む。一部の実施形態において、Ｆｃ領域におけるＮ－グリコシル化部位は、除去される。一部の実施形態において、Ｆｃ領域は、Ｎ－グリコシル化部位認識配列内の突然変異を含み、それによって、抗体またはポリペプチドのＦｃ領域は、Ｎ－グリコシル化されない。一部の実施形態において、Ｆｃ領域は、ペグ化される。一部の実施形態において、抗体またはポリペプチドの重鎖定常領域は、以下の突然変異、すなわちＡ３３０Ｐ３３１からＳ３３０Ｓ３３１（野生型ＩｇＧ２ａ配列に準拠したアミノ酸ナンバリング）を含有するヒト重鎖ＩｇＧ２ａ定常領域である。一部の実施形態において、抗体またはポリペプチドは、以下の突然変異、すなわち、Ｅ２３３Ｆ２３４Ｌ２３５からＰ２３３Ｖ２３４Ａ２３５を含むＩｇＧ４の定常領域を含む。

【００１３】

一部の実施形態において、抗体またはポリペプチドは、Ａβペプチドの残基１～１６内のエピトープと特異的に結合する。一部の実施形態において、抗体またはポリペプチドは、ＡβペプチドのＮ末端と特異的に結合する。一部の実施形態において、抗体またはポリペプチドは、Ａβペプチドの残基１６～２８内のエピトープと特異的に結合する。一部の実施形態において、抗体は、アミノ酸２５またはそれ以降から始まるエピトープなどの、ＡβペプチドのＣ末端側上のエピトープと特異的に結合する。抗体は、Ａβペプチド１～３７、１～３８、１～３９、１～４０、１～４１、１～４２、１～４３のうちのいずれかと特異的に結合することができる。一部の実施形態において、抗体は、Ｃ末端切断型Ａβペプチド、例えばＡβ１～３７、１～３８、１～３９、１～４０、１～４１、１～４２、１～４３の遊離Ｃ末端アミノ酸と特異的に結合することができる。一実施形態において、抗体またはポリペプチドは、$Aβ_{1～40}$ペプチド上のエピトープと特異的に結合する。この実施形態の他の態様において、抗体またはポリペプチドは、$Aβ_{1～42}$ペプチド上のエピトープと特異的に結合する。この実施形態のさらに他の態様において、抗体またはポリペプチドは、$Aβ_{1～43}$ペプチド上のエピトープと特異的に結合する。一部の実施形態において、抗体またはポリペプチドは、$Aβ_{1～40}$ペプチドの残基２８～４０内のエピトープと特異的に結合する。一部の実施形態において、抗体またはポリペプチドは、$Aβ_{1～42}$ペプチドの残基２８～４２内のエピトープと特異的に結合する。一部の実施形態において、抗体またはポリペプチドは、$Aβ_{1～43}$ペプチドの残基２８～４３内のエピトープと特異的に結合する。一部の実施形態において、抗体またはポリペプチドは、完全長アミロイド前駆体タンパク質（ＡＰＰ）と結合することなくＡβペプチドと特異的に結合する。一部の実施形態において、抗体またはポリペプチドは、可溶形態に結合することなく凝集形態のＡβと特異的に結合する。一部の実施形態において、抗体またはポリペプチドは、凝集形態に結合することなく可溶形態のＡβと特異的に結合する。一部の実施形態において、抗体またはポリペプチドは、Ａβの凝集形態と可溶形態の双方と特異的に結合する。

【００１４】

一部の実施形態において、抗体またはポリペプチドは、$Aβ_{1～40}$のＣ末端ペプチド３３～４０と特異的に結合する。一部の実施形態において、抗体またはポリペプチドは、アミノ酸３５～４０が含まれる$Aβ_{1～40}$上のエピトープと特異的に結合する。一部の実施形態において、抗体またはポリペプチドは、アミノ酸３６～４０が含まれる$Aβ_{1～40}$上のエピトープと特異的に結合する。一部の実施形態において、抗体またはポリペプチドは、アミノ酸３９および／または４０が含まれる$Aβ_{1～40}$上のエピトープと特異的に結合する。一部の実施形態において、抗体またはポリペプチドは、$Aβ_{1～40}$と特異的に結合するが、$Aβ_{1～42}$および／または$Aβ_{1～43}$と特異的に結合しない。一部の実施形態において、抗体は、抗体９ＴＬまたは本明細書に記載されている９ＴＬに由来する抗体の可変領域を含む。一部の実施形態において、抗体またはポリペプチドは、抗体９ＴＬ、６Ｇおよび／または９ＴＬまたは６Ｇに由来する抗体もしくはポリペプチドが

、それぞれのＡβペプチドに結合するのを競合的に阻害する。

【００１５】

一部の実施形態において、抗体またはポリペプチドは、そのＡβ$_{1～42}$およびＡβ$_{1～43}$との結合よりも高い親和性でＡβ$_{1～40}$と結合する。この実施形態の他の態様において、抗体は、抗体２２９４ではない。一部の実施形態において、抗体は、アミノ酸２５～３４および４０が含まれるＡβ$_{1～40}$上のエピトープと結合する。一部の実施形態において、抗体は、抗体６Ｇまたは本明細書に記載されている６Ｇに由来する抗体の可変領域を含む。一部の実施形態において、抗体またはポリペプチドは、抗体６Ｇおよび／または６Ｇに由来する抗体またはポリペプチドがＡβペプチドに結合するのを競合的に阻害する。

【００１６】

一部の実施形態において、抗体またはポリペプチドは、約１００ｎＭ以下、または２０ｎＭ以下、または２ｎＭ以下の結合親和性（K_D）でＡβペプチドと結合する。この実施形態の一態様において、抗体またはポリペプチドは、約１００ｎＭ以下、５０ｎＭ以下、または２ｎＭ以下のK_DでＡβ$_{1～40}$ペプチドと結合する。この実施形態の他の態様において、抗体またはポリペプチドは、約１００ｎＭ以下、５０ｎＭ以下、または２ｎＭ以下のK_DでＡβ$_{1～42}$ペプチドとも結合する。

【００１７】

Ａβペプチドと特異的に結合する抗体またはポリペプチドは、静脈内に、皮下に、吸入を介し、動脈内に、筋肉内に、心臓内に、室内に、非経口的に、髄腔内に、および腹腔内にを含む当技術分野で知られている任意の手段によって投与することができる。投与は、注射により、および／または全身的、例えば、静脈内に、または局所的であってよい。このことは、本発明のポリペプチドおよびポリヌクレオチドにも一般的に当てはまる。

【００１８】

本発明は、有効量の、Ａβペプチドまたは凝集形態のＡβペプチドと特異的に結合し、エフェクター機能障害を有する抗体またはポリペプチドのうちのいずれか、または抗体もしくはポリペプチドをコードするポリヌクレオチド、および薬学的に許容できる賦形剤を含む医薬組成物を投与することにより眼科疾患を治療する方法も提供する。

【００１９】

本発明は、有効量の、Ａβペプチドまたは凝集形態のＡβペプチドと特異的に結合する抗体もしくはポリペプチド、または抗体もしくはポリペプチドをコードするポリヌクレオチドのうちのいずれかを含む組成物のうちのいずれか１個または複数を含むキットおよび組成物も提供する。これらのキットは、一般的に適当なパッケージング中にあって、適切な説明書が提供され、本明細書に記載されている方法のうちのいずれかに有用である。

【００２０】

本発明は、ヒト対象の脳におけるＡβペプチドのアミロイド沈着を伴う疾患を治療するための治療用ヒト化抗体を製造する方法であって、Ａβペプチドと特異的に結合する第１のヒト化抗体を選択し、この抗体のＦｃ領域を変異させて、第１のヒト化抗体と比べてエフェクター機能障害を有する治療用ヒト化抗体を提供することを含む方法も提供する。

【００２１】

本発明の別の実施形態は、対象において網膜機能を保護または回復するための方法であって、対象に、治療有効量のＡβ阻害薬を含む医薬組成物を投与することを含む方法を対象とする。一実施形態において、阻害薬は、抗体、アンチセンス分子、ｓｉＲＮＡ分子、リボザイム、または小分子化合物である。

【００２２】

本発明の別の実施形態は、対象において視力を保存または回復するための方法であって、治療有効量のＡβ阻害薬を投与することを含む方法を対象とする。

【００２３】

上記実施形態の一態様において、上記方法は、アルツハイマー病、ダウン症候群、または脳アミロイドアンギオパチーを治療されていない対象において使用される。

【００２４】
本発明の上述の方法には、抗体であるＡβ阻害薬が含まれる。一態様において、本明細書に開示されている本発明は、Ａβ$_{1\sim40}$ペプチド（表４に示す配列番号１５）のＣ末端と結合する抗体に関する。したがって、一態様において、この方法は、ＡＴＣＣアクセッション番号ＰＴＡ－６１２４およびＰＴＡ－６１２５を有する発現ベクターによって製造される抗体９ＴＬ（同義的に「９ＴＬ」と呼ばれる）による治療を含む。９ＴＬの重鎖および軽鎖可変領域のアミノ酸配列を図１に示す。抗体９ＴＬの相補性決定領域（ＣＤＲ）（ＣｈｏｔｈｉａおよびＫａｂａｔ　ＣＤＲを含む）も図１に示す。当然のことながら、９ＴＬの任意の部分または全領域への言及は、ＡＴＣＣアクセッション番号ＰＴＡ－６１２４およびＰＴＡ－６１２５を有する発現ベクターによって製造される配列、および／または図１に示す配列を包含する。

【００２５】
別の態様において、本発明は、表３に示すアミノ酸配列を持つ９ＴＬの抗体変異体の投与を含む。

【００２６】
別の態様において、本発明は、抗体９ＴＬまたは表３に示すその変異体のフラグメントまたは領域を含む抗体の投与を含む。一実施形態において、フラグメントは、抗体９ＴＬの軽鎖である。別の実施形態において、フラグメントは、抗体９ＴＬの重鎖である。さらに別の実施形態において、フラグメントは、抗体９ＴＬの軽鎖および／または重鎖由来の１個または複数の可変領域を含有する。さらに別の実施形態において、フラグメントは、図１に示す軽鎖および／または重鎖由来の１個または複数の可変領域を含有する。さらに別の実施形態において、フラグメントは、抗体９ＴＬの軽鎖および／または重鎖由来の１個または複数のＣＤＲを含有する。

【００２７】
別の態様において、本発明は、以下の、すなわち、ａ）抗体９ＴＬまたは表３に示すその変異体の１個または複数のＣＤＲ、ｂ）抗体９ＴＬまたは表３に示すその変異体の重鎖由来のＣＤＲ　Ｈ３、ｃ）抗体９ＴＬまたは表３に示すその変異体の軽鎖由来のＣＤＲ　Ｌ３、ｄ）抗体９ＴＬまたは表３に示すその変異体の軽鎖由来の３個のＣＤＲ、ｅ）抗体９ＴＬまたは表３に示すその変異体の重鎖由来の３個のＣＤＲ、ｆ）抗体９ＴＬまたは表３に示すその変異体の軽鎖由来の３個のＣＤＲおよび重鎖由来の３個のＣＤＲのうちのいずれか１個または複数を含むポリペプチド（抗体であっても抗体でなくてもよい）の投与を含む。本発明は、以下の、すなわち、ａ）抗体９ＴＬまたは表３に示すその変異体に由来する１個または複数（１、２、３、４、５、または６個）のＣＤＲ、ｂ）抗体９ＴＬの重鎖由来のＣＤＲ　Ｈ３に由来するＣＤＲ、および／またはｃ）抗体９ＴＬの軽鎖由来のＣＤＲ　Ｌ３に由来するＣＤＲのうちのいずれか１個または複数を含むポリペプチド（抗体であっても抗体でなくてもよい）の投与をさらに提供する。一部の実施形態において、ＣＤＲは、図１に示すＣＤＲである。一部の実施形態において、抗体９ＴＬまたは表３に示すその変異体に由来する１個または複数のＣＤＲは、９ＴＬまたはその変異体の少なくとも１個、少なくとも２個、少なくとも３個、少なくとも４個、少なくとも５個、または少なくとも６個のＣＤＲと、少なくとも約８５％、少なくとも約８６％、少なくとも約８７％、少なくとも約８８％、少なくとも約８９％、少なくとも約９０％、少なくとも約９１％、少なくとも約９２％、少なくとも約９３％、少なくとも約９４％、少なくとも約９５％、少なくとも約９６％、少なくとも約９７％、少なくとも約９８％、または少なくとも約９９％同一である。

【００２８】
別の態様において、本発明は、抗体６Ｇ（同義的に「６Ｇ」と呼ばれる）の投与を含む。６Ｇの重鎖および軽鎖可変領域のアミノ酸配列を図８に示す。抗体６Ｇの相補性決定領域（ＣＤＲ）（ＣｈｏｔｈｉａおよびＫａｂａｔ　ＣＤＲを含む）も図８に示す。

【００２９】
別の態様において、本発明は、表８に示すアミノ酸配列を持つ６Ｇの抗体変異体の投与

を含む。

【００３０】

別の態様において、本発明は、抗体６Ｇまたは表８に示すその変異体のフラグメントまたは領域を含む抗体の投与を含む。一実施形態において、フラグメントは、抗体６Ｇの軽鎖である。別の実施形態において、フラグメントは、抗体６Ｇの重鎖である。さらに別の実施形態において、フラグメントは、抗体６Ｇの軽鎖および／または重鎖由来の１個または複数の可変領域を含有する。さらに別の実施形態において、フラグメントは、図８に示す軽鎖および／または重鎖由来の１個または複数の可変領域を含有する。さらに別の実施形態において、フラグメントは、抗体６Ｇの軽鎖および／または重鎖由来の１個または複数のＣＤＲを含有する。

【００３１】

別の態様において、本発明は、以下の、すなわち、ａ）抗体６Ｇまたは表８に示すその変異体の１個または複数のＣＤＲ、ｂ）抗体６Ｇまたは表８に示すその変異体の重鎖由来のＣＤＲ　Ｈ３、ｃ）抗体６Ｇまたは表８に示すその変異体の軽鎖由来のＣＤＲ　Ｌ３、ｄ）抗体６Ｇまたは表８に示すその変異体の軽鎖由来の３個のＣＤＲ、ｅ）抗体６Ｇまたは表８に示すその変異体の重鎖由来の３個のＣＤＲ、ｆ）抗体６Ｇまたは表８に示すその変異体の軽鎖由来の３個のＣＤＲおよび重鎖由来の３個のＣＤＲのうちのいずれか１個または複数を含むポリペプチド（抗体であっても抗体でなくてもよい）の投与を含む。本発明は、以下の、すなわち、ａ）抗体６Ｇまたは表８に示すその変異体に由来する１個または複数（１、２、３、４、５、または６個）のＣＤＲ、ｂ）抗体６Ｇの重鎖由来のＣＤＲ　Ｈ３に由来するＣＤＲ、および／またはｃ）抗体６Ｇの軽鎖由来のＣＤＲ　Ｌ３に由来するＣＤＲのうちのいずれか１個または複数を含むポリペプチド（抗体であっても抗体でなくてもよい）の投与をさらに含む。一部の実施形態において、ＣＤＲは、図８に示すＣＤＲである。一部の実施形態において、抗体６Ｇまたは表８に示すその変異体に由来する１個または複数のＣＤＲは、６Ｇまたはその変異体の少なくとも１個、少なくとも２個、少なくとも３個、少なくとも４個、少なくとも５個、または少なくとも６個のＣＤＲと、少なくとも約８５％、少なくとも約８６％、少なくとも約８７％、少なくとも約８８％、少なくとも約８９％、少なくとも約９０％、少なくとも約９１％、少なくとも約９２％、少なくとも約９３％、少なくとも約９４％、少なくとも約９５％、少なくとも約９６％、少なくとも約９７％、少なくとも約９８％、または少なくとも約９９％同一である。

【００３２】

他の態様において、本発明は、配列番号２６に示す抗体６Ｇ重鎖可変領域由来の３個のＣＤＲを含む重鎖可変領域、および配列番号２７に示す抗体６Ｇ軽鎖可変領域由来の３個のＣＤＲを含む軽鎖可変領域を含む抗体の投与を含む。別の態様において、本発明は、配列番号２８、配列番号２９、および配列番号３０に示す３個のＣＤＲを含む重鎖可変領域、ならびに配列番号３１、配列番号３２、および配列番号３３に示す３個のＣＤＲを含む軽鎖可変領域を含む抗体の投与を含む。さらに別の態様において、本発明は、配列番号２６に示すアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、および配列番号２７に示すアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む。さらに別の態様において、本発明は、配列番号３６に示す重鎖アミノ酸配列、および配列番号３７に示す軽鎖アミノ酸配列を含む。

【００３３】

一部の実施形態において、ＣＤＲは、Ｋａｂａｔ　ＣＤＲである。他の実施形態において、ＣＤＲは、Ｃｈｏｔｈｉａ　ＣＤＲである。他の実施形態において、ＣＤＲは、Ｋａｂａｔ　ＣＤＲとＣｈｏｔｈｉａ　ＣＤＲの組合せである（「複合（ｃｏｍｂｉｎｅｄ）ＣＤＲ」または「拡大（ｅｘｔｅｎｄｅｄ）ＣＤＲ」とも呼ばれる）。換言すれば、２個以上のＣＤＲを含有するいかなる所与の実施形態について、ＣＤＲは、Ｋａｂａｔ、Ｃｈｏｔｈｉａ、および／または複合のうちのいずれであってもよい。

【００３４】

一部の実施形態において、ポリペプチド（抗体など）は、配列番号５に示すアミノ酸配列を含み、Ｌ１は、Ｌ、Ｖ、またはＩであり、Ｙ２は、ＹまたはＷであり、Ｓ３は、Ｓ、

Ｔ、またはＧであり、Ｌ４は、Ｌ、Ｒ、Ａ、Ｖ、Ｓ、Ｔ、Ｑ、またはＥであり、Ｖ６は、Ｖ、Ｉ、Ｔ、Ｐ、Ｃ、Ｑ、Ｓ、Ｎ、またはＦであり、Ｙ７は、Ｙ、Ｈ、Ｆ、Ｗ、Ｓ、Ｉ、ＶまたはＡである。一部の実施形態において、アミノ酸配列は、重鎖可変領域中のＣＤＲ３である。本明細書では便宜上、アミノ酸へのこの文脈または言及における「ｉｓ」は、配列番号中の位置に関して所与の位置に関する１個または複数のアミノ酸の選択を指す。例えば、「Ｌ１は、Ｌ、Ｖ、またはＩである（Ｌ１　ｉｓ　Ｌ、Ｖ、ｏｒ　Ｉ）」は、配列番号５中の１位におけるアミノ酸が、ＶまたはＩで置換されていてもよいことを指す。

【００３５】

一部の実施形態において、ポリペプチド（抗体など）は、配列番号６に示すアミノ酸配列を含み、Ｙ８は、Ｙ、Ａ、またはＨであり、Ａ１１は、ＡまたはＳであり、Ｋ１２は、ＫまたはＡである。一部の実施形態において、アミノ酸配列は、軽鎖可変領域中のＣＤＲ１である。

【００３６】

一部の実施形態において、ポリペプチド（抗体など）は、配列番号８に示すアミノ酸配列を含み、Ｌ１は、Ｌ、Ｍ、Ｎ、Ｃ、Ｆ、Ｖ、Ｋ、Ｓ、Ｑ、Ｇ、Ｓであり、Ｇ３は、Ｇ、Ｓ、またはＴであり、Ｔ４は、ＴまたはＳであり、Ｈ５は、ＨまたはＬであり、Ｙ６は、Ｙ、Ｐ、Ａ、Ｗ、Ｑ、Ｍ、Ｓ、またはＥであり、Ｖ８は、Ｖ、Ｌ、Ｋ、Ｈ、Ｔ、Ａ、ＥまたはＭであり、Ｌ９は、Ｌ、Ｉ、Ｔ、Ｓ、またはＶである。一部の実施形態において、アミノ酸配列は、軽鎖可変領域中のＣＤＲ３である。

【００３７】

一部の実施形態において、ポリペプチド（抗体など）は、（ａ）配列番号３に示すＣＤＲ１領域、（ｂ）配列番号４に示すＣＤＲ２領域、および（ｃ）配列番号５に示すＣＤＲ３領域を含む重鎖可変領域を含み、Ｌ１は、Ｌ、Ｖ、またはＩであり、Ｙ２は、ＹまたはＷであり、Ｓ３は、Ｓ、Ｔ、またはＧであり、Ｌ４は、Ｌ、Ｒ、Ａ、Ｖ、Ｓ、Ｔ、Ｑ、またはＥであり、Ｖ６は、Ｖ、Ｉ、Ｔ、Ｐ、Ｃ、Ｑ、Ｓ、Ｎ、またはＦであり、Ｙ７は、Ｙ、Ｈ、Ｆ、Ｗ、Ｓ、Ｉ、Ｖ、またはＡである。

【００３８】

一部の実施形態において、ポリペプチド（抗体など）は、（ａ）Ｙ８が、Ｙ、ＡまたはＨであり、Ａ１１が、ＡまたはＳであり、Ｋ１２が、ＫまたはＡである配列番号６に示すＣＤＲ１領域、（ｂ）配列番号７に示すＣＤＲ２領域、および（ｃ）Ｌ１が、Ｌ、Ｍ、Ｎ、Ｃ、Ｆ、Ｖ、Ｋ、Ｓ、Ｑ、Ｇ、Ｓであり、Ｇ３が、Ｇ、Ｓ、またはＴであり、Ｔ４が、ＴまたはＳであり、Ｈ５が、ＨまたはＬであり、Ｙ６が、Ｙ、Ｐ、Ａ、Ｗ、Ｑ、Ｍ、Ｓ、またはＥであり、Ｖ８が、Ｖ、Ｌ、Ｋ、Ｈ、Ｔ、Ａ、Ｅ、またはＭであり、Ｌ９が、Ｌ、Ｉ、Ｔ、Ｓ、またはＶである配列番号８に示すＣＤＲ３領域を含む軽鎖可変領域を含む。

【００３９】

一部の実施形態において、本発明の抗体は、ヒト抗体である。他の実施形態において、本発明の抗体は、ヒト化抗体である。一部の実施形態において、抗体は、モノクローナルである。一部の実施形態において、抗体（またはポリペプチド）は、単離される。一部の実施形態において、抗体（またはポリペプチド）は、実質的に純粋である。

【００４０】

抗体の重鎖定常領域は、ＩｇＧ、ＩｇＭ、ＩｇＤ、ＩｇＡ、およびＩｇＥなどの定常領域の任意のタイプ、ならびにＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３、およびＩｇＧ４などの任意のアイソタイプ由来であってよい。

【００４１】

一部の実施形態において、抗体は、免疫学的に不活性である（部分的に免疫学的に不活性が含まれ、用語「エフェクター機能障害を有する」と同義的に使用される）、例えば、補体媒介性溶解を誘発しない、抗体依存性細胞媒介性細胞障害（ＡＤＣＣ）を刺激しない、またはミクログリアを活性化しない定常領域などの改変された定常領域を含む。一部の実施形態において、定常領域は、Ｅｕｒ．Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．（１９９９）２９：２６１３～２６２４；ＰＣＴ出願第ＰＣＴ／ＧＢ９９／０１４４１号；および／または英国特

許出願第９８０９９５１．８号に記載されているように改変される。他の実施形態において、抗体は、以下の突然変異、すなわち、Ａ３３０Ｐ３３１からＳ３３０Ｓ３３１（野生型ＩｇＧ２ａ配列に準拠したアミノ酸ナンバリング）を含むヒト重鎖ＩｇＧ２ａ定常領域を含む。Ｅｕｒ．Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．（１９９９）２９：２６１３～２６２４。一部の実施形態において、抗体は、以下の突然変異、すなわち、Ｅ２３３Ｆ２３４Ｌ２３５からＰ２３３Ｖ２３４Ａ２３５を含むＩｇＧ４の定常領域を含む。さらに他の実施形態において、定常領域は、Ｎ－結合型グリコシル化部についてアグリコシル化（ａｇｌｙｃｏｓｙｌａｔｅｄ）される。一部の実施形態において、定常領域は、定常領域中のＮ－グリコシル化部位認識配列の一部であるオリゴ糖付着残基（Ａｓｎ２９７など）および／または隣接残基を突然変異させることによりＮ－結合型グリコシル化部についてアグリコシル化される。一部の実施形態において、定常領域は、Ｎ－結合型グリコシル化部についてアグリコシル化される。定常領域は、酵素的に、またはグリコシル化欠損宿主細胞における発現により、Ｎ－結合型グリコシル化部についてアグリコシル化されてもよい。

【００４２】

別の態様において、本発明は、抗体９ＴＬもしくは６Ｇまたは表３および表８に示すそれらの変異体のフラグメントまたは領域をコードするポリヌクレオチドを含むポリヌクレオチド（単離されてもよい）を提供する。一実施形態において、フラグメントは、抗体９ＴＬまたは６Ｇの軽鎖である。別の実施形態において、フラグメントは、抗体９ＴＬまたは６Ｇの重鎖である。さらに別の実施形態において、フラグメントは、抗体９ＴＬまたは６Ｇの軽鎖および／または重鎖由来の１個または複数の可変領域を含有する。さらに別の実施形態において、フラグメントは、抗体９ＴＬまたは６Ｇの軽鎖および／または重鎖由来の１個または複数（１、２、３、４、５、または６個）の相補性決定領域（ＣＤＲ）を含有する。

【発明を実施するための最良の形態】

【００４３】

ＡＭＤのマウスモデルは、理論に束縛されることなく、脂質輸送調節不全およびアミロイド沈着が、加齢性黄斑変性症、緑内障、糖尿病性網膜症（黄斑浮腫を含む）および他の関連する網膜変性疾患で見られる観察された網膜変化の病因の一因となっているという仮説をテストする上で役立ってきた。Ａβ沈着は、アルツハイマーで広く研究され、これまでの研究は、加齢性黄斑変性症（Ｙｏｓｈｉｄａ，Ｔ．他、Ｊ．ｏｆ　Ｃｌｉｎ．Ｉｎｖｅｓｔ．、１１５（１０）：２７９３～２８００（２００５）；Ａｎｄｅｒｓｏｎ，Ｄ．他、Ｅｘｐｅｒｉｍｅｎｔａｌ　Ｅｙｅ　Ｒｅｓｅａｒｃｈ　７８：２４３～２５６（２００４）；Ｊｏｈｎｓｏｎ，Ｌ．他、ＰＮＡＳ、９９（１８）：１１８２０～１１８３５（２００２））および緑内障（ＭｃＫｉｎｎｏｎ　ＳＪ、Ｆｒｏｎｔ　Ｂｉｏｓｃｉ　８：１１４０～５６（２００３）；Ｔａｔｔｏｎ他、Ｓｕｒｖ　Ｏｐｈｔｈａｌｍｏｌ．４８：Ｓ２５～３７（２００３））におけるＡβの潜在的な役割を示した。しかしながら、Ａβの阻害薬が、網膜の保護および／または回復を行うことにより黄斑変性症の治療において治療的有用性を提供することができるか否かに関してこれまでのところ論議されたことはない。さらに、Ａβのアイソフォームのうちのどれが、差別的にＡＭＤの病因の一因となるか否かに関して論議されたことはない。

【００４４】

上述のように、Ａβは、アルツハイマー病で見出される神経突起プラークの主成分である。Ａβは、βアミロイド前駆体タンパク質（βＡＰＰまたはＡＰＰ）の切断産物である。ＡＰＰは、大きな異所性Ｎ末端ドメイン、膜貫通ドメイン、および小さな細胞質内Ｃ末端尾部を含有するＩ型膜貫通糖タンパク質である。第２１染色体上の単一ＡＰＰ遺伝子の転写産物の選択的スプライシングは、アミノ酸の数が異なるいくつかのアイソフォームをもたらす。アルツハイマー病におけるこれまでの研究は、$Aβ_{1～42}$アイソフォームが、アミロイド沈着に不可欠であり、$Aβ_{1～40}$ではなく、$Aβ_{1～42}$が、アルツハイマーの病因における開始分子である可能性があることを証明した（ＭｃＧｏｗａｎ，Ｅ．他、Ｎｅｕｒｏｎ　４７：１９１～１９９（２００５））。さらに、アルツハイマー病に

おける別の研究は、Ａβ$_{1～40}$アイソフォームが、アミロイド沈着を実際に阻害すること、およびＡβ$_{1～40}$の阻害薬が、アルツハイマー病の経過を悪化させることを示唆している（Ｋｉｍ, Ｊ．他、Ｎｅｕｒｏｂｉｏｌｏｇｙ ｏｆ Ｄｉｓｅａｓｅ、２７（３）：６２７～６３３（２００７））。

【００４５】

本明細書に開示されている発明は、治療有効量の抗体９ＴＬ、もしくは６Ｇ、またはそれらに由来する抗体もしくはポリペプチドの投与により、個体における加齢性黄斑変性症（滲出型と萎縮型の双方）、緑内障、糖尿病性網膜症（糖尿病性黄斑浮腫を含む）、ブルッフ膜における裂傷、近視性変性、眼腫瘍および他の関連する網膜変性疾患などの眼科疾患を予防および／または治療するための方法を提供する。抗体９ＴＬおよびその誘導体は、ＷＯ２００６０３６２９１に記載されており、その開示は、参照により全体として本明細書に組み込まれるものとする。開示方法において使用される抗体およびポリペプチドは、Ａβ$_{1～40}$のＣ末端と結合する。抗体６Ｇおよびその誘導体は、ＷＯ２００６０３６２９１およびＷＯ２００６１１８９５９に記載されており、それらの開示は、参照により全体として本明細書に組み込まれるものとする。本発明の方法には、小分子化合物、ならびに抗体、アンチセンス分子、ｓｉＲＮＡ分子およびリボザイムなどの生物製剤を含むがこれらに限定されないＡβのすべての阻害薬が含まれることが意図されている。

【００４６】

一般的技法

本発明の実施は、他に指示がない限り、当技術分野の技能の範囲内にある分子生物学（組み換え技法を含む）、微生物学、細胞生物学、生化学および免疫学の従来の技法を用いるであろう。そのような技法は、Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｃｌｏｎｉｎｇ：Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ、第2版（Ｓａｍｂｒｏｏｋ他、１９８９）Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ Ｐｒｅｓｓ；Ｏｌｉｇｏｎｕｃｌｅｏｔｉｄｅｓ Ｓｙｎｔｈｅｓｉｓ（Ｍ．Ｊ．Ｇａｔｔ編、１９８４）；Ｍｅｔｈｏｄｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ、Ｈｕｍａｎａ Ｐｒｅｓｓ；Ｃｅｌｌ Ｂｉｏｌｏｇｙ：Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｎｏｔｅｂｏｏｋ（Ｊ．Ｅ．Ｃｅｌｌｉｓ編、１９９８）Ａｃａｄｅｍｉｃ Ｐｒｅｓｓ；Ａｎｉｍａｌ Ｃｅｌｌ Ｃｕｌｔｕｒｅ（Ｒ．Ｉ．Ｆｒｅｓｈｎｅｙ編、１９８７）；Ｉｎｔｒｏｄｕｃｔｉｏｎ ｔｏ Ｃｅｌｌ ａｎｄ Ｔｉｓｓｕｅ Ｃｕｌｔｕｒｅ（Ｊ．Ｐ．ＭａｔｈｅｒおよびＰ．Ｅ．Ｒｏｂｅｒｔｓ、１９９８）Ｐｌｅｎｕｍ Ｐｒｅｓｓ；Ｃｅｌｌ ａｎｄ Ｔｉｓｓｕｅ Ｃｕｌｔｕｒｅ：Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｐｒｏｃｅｄｕｒｅｓ（Ａ．Ｄｏｙｌｅ、Ｊ．Ｂ．Ｇｒｉｆｆｉｔｈｓ、およびＤ．Ｇ．Ｎｅｗｅｌｌ編、１９９３～１９９８）Ｊ．Ｗｉｌｅｙ ａｎｄ Ｓｏｎｓ；Ｍｅｔｈｏｄｓ ｉｎ Ｅｎｚｙｍｏｌｏｇｙ（Ａｃａｄｅｍｉｃ Ｐｒｅｓｓ，Ｉｎｃ．）；Ｈａｎｄｂｏｏｋ ｏｆ Ｅｘｐｅｒｉｍｅｎｔａｌ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ（Ｄ．Ｍ．ＷｅｉｒおよびＣ．Ｃ．Ｂｌａｃｋｗｅｌｌ編）；Ｇｅｎｅ Ｔｒａｎｓｆｅｒ Ｖｅｃｔｏｒｓ ｆｏｒ Ｍａｍｍａｌｉａｎ Ｃｅｌｌｓ（Ｊ．Ｍ．ＭｉｌｌｅｒおよびＭ．Ｐ．Ｃａｌｏｓ編、１９８７）；Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ（Ｆ．Ｍ．Ａｕｓｕｂｅｌ他編、１９８７）；ＰＣＲ：Ｔｈｅ Ｐｏｌｙｍｅｒａｓｅ Ｃｈａｉｎ Ｒｅａｃｔｉｏｎ、（Ｍｕｌｌｉｓ他編、１９９４）；Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ（Ｊ．Ｅ．Ｃｏｌｉｇａｎ他編、１９９１）；Ｓｈｏｒｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ（Ｗｉｌｅｙ ａｎｄ Ｓｏｎｓ、１９９９）；Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ（Ｃ．Ａ．ＪａｎｅｗａｙおよびＰ．Ｔｒａｖｅｒｓ、１９９７）；Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ（Ｐ．Ｆｉｎｃｈ、１９９７）；Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ：ａ ｐｒａｃｔｉｃａｌ ａｐｐｒｏａｃｈ（Ｄ．Ｃａｔｔｙ．編、ＩＲＬ Ｐｒｅｓｓ、１９８８～１９８９）；Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ：ａ ｐｒａｃｔｉｃａｌ ａｐｐｒｏａｃｈ（Ｐ．ＳｈｅｐｈｅｒｄおよびＣ．Ｄｅａｎ編、Ｏｘｆｏｒｄ Ｕｎｉｖｅｒｓｉｔｙ Ｐｒｅｓｓ、２０００）；Ｕｓｉｎｇ ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ：ａ ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ ｍａｎｕａｌ（Ｅ．ＨａｒｌｏｗおよびＤ．Ｌａｎｅ（Ｃｏｌ

ｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｐｒｅｓｓ、１９９９）；Ｔｈｅ Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ（Ｍ．ＺａｎｅｔｔｉおよびＪ．Ｄ．Ｃａｐｒａ編、Ｈａｒｗｏｏｄ Ａｃａｄｅｍｉｃ Ｐｕｂｌｉｓｈｅｒｓ、１９９５）などの文献中に十分に説明されている。

【００４７】

定義

「Ａβペプチドの阻害薬」は、Ａβペプチドの産生および／または沈着を減少させることができる任意の薬剤である。Ａβペプチドの阻害薬には、抗体、アンチセンス分子、ｓｉＲＮＡ分子、リボザイム、または小分子化合物が含まれるが、これらに限定されるものではない。さらに、Ａβペプチドの阻害薬は、アミロイド前駆体タンパク質の生成物Ａβペプチドへのタンパク質分解的切断を中断することができる任意の薬剤を含む、Ａβペプチドと結合しＡβプラーク沈着を減少させることができる任意の薬剤である。Ａβペプチドの産生および沈着を阻害するための追加の標的には、例えば、β－セクレターゼ（ＢＡＣＥ１またはメマプシン－２－とも呼ばれる）または最低限４つの個々のタンパク質、すなわち、プレセニリン、ニカストリン、前咽頭欠損（ａｎｔｅｒｉｏｒ ｐｈａｒｙｎｘ－ｄｅｆｅｃｔｉｖｅ）１（ＡＰＨ－１）およびプレセニリンエンハンサー２（ＰＥＮ－２）からなるγセクレターゼ複合体を阻害またはサイレンシングさせることができる小分子治療薬またはｓｉＲＮＡが含まれるが、これらに限定されるものではない。

【００４８】

「抗体」は、免疫グロブリン分子の可変領域に位置する少なくとも１個の抗原認識部位を介して、炭水化物、ポリヌクレオチド、脂質、ポリペプチドなどの標的と特異的に結合することができる免疫グロブリン分子である。本明細書で使用するこの用語は、インタクトなポリクローナルまたはモノクローナル抗体ばかりでなく、それらのフラグメント（Ｆａｂ、Ｆａｂ’、Ｆ（ａｂ’）$_2$、Ｆｖ）、単鎖（ＳｃＦｖ）、それらの突然変異体、抗体部分を含む融合タンパク質、および抗原認識部位を含む免疫グロブリン分子のその他の改変された立体配置も包含する。抗体には、ＩｇＧ、ＩｇＡ、またはＩｇＭ（またはそれらのサブクラス）などの任意のクラスの抗体が含まれ、抗体は、任意の特定のクラスである必要はない。その重鎖の定常ドメインの抗体アミノ酸配列に応じて、免疫グロブリンを、様々なクラスに割り当てることができる。免疫グロブリンの５つの大きなクラス、すなわち、ＩｇＡ、ＩｇＤ、ＩｇＥ、ＩｇＧ、およびＩｇＭがあり、これらのうちのいくつかは、サブクラス（アイソタイプ）、例えば、ＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３、ＩｇＧ４、ＩｇＡ１およびＩｇＡ２にさらに分けられることがある。免疫グロブリンの様々なクラスに対応する重鎖定常ドメインは、それぞれα、δ、ε、γ、およびμと呼ばれる。免疫グロブリンの様々なクラスのサブユニット構造および三次元立体配置は、よく知られている。

【００４９】

本明細書で使用する「モノクローナル抗体」は、実質的に均一な抗体の集団から得られる抗体を指し、すなわち、集団を構成する個々の抗体は、少量で存在することがある可能な天然に存在する突然変異を除いて同一である。モノクローナル抗体は、高度に特異的であり、単一の抗原部位を対象とする。さらに、通常は様々な決定基（エピトープ）を対象とする様々な抗体が含まれるポリクローナル抗体調製物とは対照的に、各モノクローナル抗体は、抗原上の単一決定基を対象とする。改変語句「モノクローナル」は、抗体の実質的に均一な集団から得られるという抗体の特徴を示しており、任意の特定の方法による抗体の製造を必要とすると見なされるべきではない。例えば、本発明に従って使用するべきモノクローナル抗体は、ＫｏｈｌｅｒおよびＭｉｌｓｔｅｉｎ、１９７５、Ｎａｔｕｒｅ、２５６：４９５によって初めて記載されたハイブリドーマ法によって製造することができ、または米国特許第４，８１６，５６７号に記載されているような組み換えＤＮＡ法によって製造することができる。モノクローナル抗体は、例えば、ＭｃＣａｆｆｅｒｔｙ他、１９９０、Ｎａｔｕｒｅ、３４８：５５２～５５４に記載されている技法を用いて作製されるファージライブラリーから単離することもできる。

【００５０】
本明細書で使用する「ヒト化」抗体は、非ヒト免疫グロブリンに由来する最低限の配列を含有する特異的キメラ免疫グロブリン、免疫グロブリン鎖、またはそれらのフラグメント（抗体のＦｖ、Ｆａｂ、Ｆａｂ’、Ｆ（ａｂ’）$_2$または他の抗原結合性部分配列など）である非ヒト（例えば、マウス）抗体の形態を指す。大部分は、ヒト化抗体は、レシピエントの相補性決定領域（ＣＤＲ）由来の残基が、望ましい特異性、親和性、および能力を有するマウス、ラット、またはウサギなどの非ヒト動物種（ドナー抗体）のＣＤＲ由来の残基によって置き換えられているヒト免疫グロブリン（レシピエント抗体）である。一部の場合において、ヒト免疫グロブリンのＦｖフレームワーク領域（ＦＲ）残基は、対応する非ヒト残基によって置き換えられる。さらに、ヒト化抗体は、レシピエント抗体中にも移入されたＣＤＲおよびフレームワーク配列中にも見出されない残基を含むことがあるが、抗体性能をさらに精緻化および最適化することが含まれる。一般に、ヒト化抗体は、すべてまたは実質的にすべてのＣＤＲ領域が、非ヒト免疫グロブリンのＣＤＲ領域に対応しており、すべてまたは実質的にすべてのＦＲ領域が、ヒト免疫グロブリンコンセンサス配列のＦＲ領域である少なくとも１個の、通常は２個の可変ドメインの実質的にすべてを含むであろう。ヒト化抗体は、免疫グロブリン定常領域またはドメイン（Ｆｃ）の少なくとも一部、通常はヒト免疫グロブリンの少なくとも一部を含むことが好ましい。抗体は、ＷＯ９９／５８５７２に記載されているように改変されているＦｃ領域を有することがある。ヒト化抗体の他の形態は、元の抗体に関して変更され、元の抗体由来の１個または複数のＣＤＲ「に由来する」１個または複数のＣＤＲとも呼ばれる１個または複数のＣＤＲ（１、２、３、４、５、６個）を有する。

【００５１】
本明細書で使用する「ヒト抗体」は、ヒトによって産生される抗体のアミノ酸配列に対応するアミノ酸配列を有するある抗体を意味し、および／または当技術分野において知られているまたは本明細書に開示されているヒト抗体を製造するための技法のうちのいずれかを用いて製造された。ヒト抗体のこの定義には、少なくとも１個のヒト重鎖ポリペプチドまたは少なくとも１個のヒト軽鎖ポリペプチドを含む抗体が含まれる。そのような一例は、マウス軽鎖およびヒト重鎖ポリペプチドを含む抗体である。ヒト抗体は、当技術分野において知られている様々な技法を用いて製造することができる。一実施形態において、ヒト抗体は、ファージライブラリーから選択され、そのファージライブラリーは、ヒト抗体を発現する（Ｖａｕｇｈａｎ他、１９９６、Ｎａｔｕｒｅ Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ、１４：３０９～３１４；Ｓｈｅｅｔｓ他、１９９８、ＰＮＡＳ、（ＵＳＡ）９５：６１５７～６１６２；ＨｏｏｇｅｎｂｏｏｍおよびＷｉｎｔｅｒ、１９９１、Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．、２２７：３８１；Ｍａｒｋｓ他、１９９１、Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．、２２２：５８１）。ヒト抗体は、ヒト免疫グロブリン遺伝子座をトランスジェニック動物、例えば、内因性免疫グロブリン遺伝子が部分的または完全に不活性化されたマウスに導入することによっても製造することができる。このアプローチは、米国特許第５，５４５，８０７号、第５，５４５，８０６号、第５，５６９，８２５号、第５，６２５，１２６号、第５，６３３，４２５号、および第５，６６１，０１６号に記載されている。代替方法として、ヒト抗体は、標的抗原を対象とする抗体を産生するヒトＢリンパ球（そのようなＢリンパ球は、個体から回収することができ、またはｉｎ ｖｉｔｒｏで免疫化することができる）を不死化することによって調製することができる。例えば、Ｃｏｌｅ他、Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ ａｎｄ Ｃａｎｃｅｒ Ｔｈｅｒａｐｙ、Ａｌａｎ Ｒ．Ｌｉｓｓ、ｐ．７７（１９８５）；Ｂｏｅｒｎｅｒ他、１９９１、Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．、１４７（１）：８６～９５；および米国特許第５，７５０，３７３号を参照されたい。

【００５２】
本明細書で使用する用語「９ＴＬ」および「抗体９ＴＬ」は、同義的に使用され、ＡＴＣＣ ＰＴＡ－６１２４およびＡＴＣＣ ＰＴＡ－６１２５の寄託番号を有する発現ベクターによって産生される抗体を指す。重鎖および軽鎖可変領域のアミノ酸配列を図１に示

す。抗体９ＴＬのＣＤＲ部分（ＣｈｏｔｈｉａおよびＫａｂａｔ　ＣＤＲを含む）を図１に図式的に示す。重鎖および軽鎖可変領域をコードするポリヌクレオチドを、配列番号９および配列番号１０に示す。９ＴＬの特徴付けは、実施例に記載される。

【００５３】

本明細書で使用する用語「６Ｇ」および「抗体６Ｇ」は、同義的に使用され、配列番号３６に示す重鎖アミノ酸配列および配列番号３７に示す軽鎖アミノ酸配列を有する抗体を指す。重鎖および軽鎖可変領域のアミノ酸配列を図８に示す。抗体６ＧのＣＤＲ部分（ＣｈｏｔｈｉａおよびＫａｂａｔ　ＣＤＲを含む）を図８に図式的に示す。重鎖および軽鎖可変領域をコードするポリヌクレオチドを、配列番号３８および配列番号３９に示す。６Ｇの特徴付けは、実施例に記載される。

【００５４】

用語「ポリペプチド」、「オリゴペプチド」、「ペプチド」および「タンパク質」は、本明細書において道義的に使用され、任意の長さのアミノ酸のポリマーを指す。ポリマーは、直鎖または分岐であってよく、改変アミノ酸を含むことがあり、非アミノ酸によって中断されていることがある。この用語は、自然に、または介入、例えば、ジスルフィド結合形成、グリコシル化、脂質化、アセチル化、リン酸化、または標識成分との結合などのその他の操作もしくは改変により改変されたアミノ酸ポリマーも包含する。例えば、アミノ酸の１個または複数の類似体（例えば、非天然アミノ酸などを含む）を含有するポリペプチド、ならびに当技術分野において知られている他の改変形態もこの定義内に含まれる。当然のことながら、本発明のポリペプチドは、抗体をベースとしているため、ポリペプチドは、一本鎖または会合した鎖として存在することがある。

【００５５】

本明細書において同義的に使用する「ポリヌクレオチド」または「核酸」は、任意の長さのヌクレオチドのポリマーを指し、ＤＮＡおよびＲＮＡが含まれる。ヌクレオチドは、デオキシリボヌクレオチド、リボヌクレオチド、改変ヌクレオチドまたは塩基、および／またはそれらの類似体、またはＤＮＡまたはＲＮＡポリメラーゼによってポリマー中に組み入れることができる任意の基質であってよい。ポリヌクレオチドは、メチル化ヌクレオチドおよびそれらの類似体などの改変ヌクレオチドを含むことがある。存在する場合、ヌクレオチド構造に対する改変は、ポリマーの組立の前後に付与することができる。ヌクレオチドの配列は、非ヌクレオチド成分によって中断されることがある。ポリヌクレオチドは、標識成分との結合などにより、重合後にさらに改変されることがある。改変の他のタイプには、例えば、「キャプス（ｃａｐｓ）」、類似体による天然に存在するヌクレオシドの置換、例えば、非荷電性連結（例えば、メチルホスホネート、ホスホトリエステル、ホスホアミデート、カルバメートなど）および荷電性連結（例えば、ホスホロチオエート、ホスホロジチオエートなど）による改変などのヌクレオチド間改変、例えば、タンパク質（例えば、ヌクレアーゼ、毒素、抗体、シグナルペプチド、ポリ－Ｌ－リシンなど）などのペンダント部分を含有する改変、インターカレーター（例えば、アクリジン、ソラーレンなど）による改変、キレート剤（例えば、金属、放射性金属、ホウ素、酸化金属など）を含有する改変、アルキル化剤を含有する改変、改変連結（例えば、αアノマーの核酸など）による改変、ならびに１種または複数のポリヌクレオチドの非改変形態が含まれる。さらに、糖内に通常存在するヒドロキシル基のいずれかを、例えば、ホスホネート基、ホスフェート基によって置き換える、標準的な保護基によって保護する、または活性化して追加のヌクレオチドに対する追加の連結を調製する、または固体支持体に結合させることができる。５’および３’末端ＯＨは、リン酸化するか、またはアミンもしくは１～２０個の炭素原子の有機キャッピング基部分で置換することができる。他のヒドロキシルも、標準的な保護基に誘導体化することができる。ポリヌクレオチドは、例えば、２’－Ｏ－メチル、２’－Ｏ－アリル、２’－フルオロ－、または２’－アジド－リボース、炭素環式糖類似体、α－アノマーの糖、アラビノース、キシロースまたはリキソースなどのエピマーの糖、ピラノース糖、フラノース糖、セドヘプツロース、非環式類似体およびメチルリボシドなどの脱塩基ヌクレオシド類似体を含む当技術分野において一般的に知られて

いるリボースまたはデオキシリボース糖の類似形態を含有することもできる。１個または複数のホスホジエステル連結部を、代替連結基によって置き換えることができる。これらの代替連結基には、ホスフェートが、Ｐ（Ｏ）Ｓ（「チオエート」）、Ｐ（Ｓ）Ｓ（「ジチオエート」）、「（Ｏ）NR_2（「アミデート」）、Ｐ（Ｏ）Ｒ、Ｐ（Ｏ）ＯＲ’、ＣＯまたはCH_2（「フォルムアセタール」）によって置き換えられ、各ＲまたはＲ’が、独立して、Ｈまたは場合によりエーテル（－Ｏ－）連結部を含有する置換もしくは非置換アルキル（１～２０Ｃ）、アリール、アルケニル、シクロアルキル、シクロアルケニルまたはアラルジル（ａｒａｌｄｙｌ）である実施形態が含まれるが、これらに限定されるものではない。ポリヌクレオチドにおけるすべての連結部が同一である必要はない。前記の説明は、ＲＮＡおよびＤＮＡを含む本明細書で言及されるすべてのポリヌクレオチドに当てはまる。

【００５６】

抗体の「可変領域」は、単独で、または合わせて、抗体軽鎖の可変領域または抗体重鎖の可変領域を指す。重鎖および軽鎖の可変領域は、各々、超可変領域としても知られている３個の相補性決定領域（ＣＤＲ）によって連結される４個のフレームワーク領域（ＦＲ）からなる。各鎖におけるＣＤＲは、ＦＲによって近接近につなぎ合わされており、他の鎖由来のＣＤＲと一緒に、抗体の抗原結合部位の形成に寄与している。ＣＤＲを決定するための少なくとも２つの技法、すなわち、（１）交差種間配列変動性に基づくアプローチ（すなわち、Ｋａｂａｔ他 Ｓｅｑｕｅｎｃｅｓ ｏｆ Ｐｒｏｔｅｉｎｓ ｏｆ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｉｃａｌ Ｉｎｔｅｒｅｓｔ、（第５版、１９９１、Ｎａｔｉｏｎａｌ Ｉｎｓｔｉｔｕｔｅｓ ｏｆ Ｈｅａｌｔｈ、Ｂｅｔｈｅｓｄａ ＭＤ）、および（２）抗原－抗体複合体の結晶学的研究に基づくアプローチ（Ａｌ－ｌａｚｉｋａｎｉ他（１９９７）Ｊ．Ｍｏｌｅｃ．Ｂｉｏｌ．２７３：９２７～９４８）が存在する。本明細書で使用するＣＤＲは、どちらかのアプローチまたは両アプローチの組合せによって定義されるＣＤＲを指すことがある。

【００５７】

抗体の「定常領域」は、単独で、または合わせて、抗体軽鎖の定常領域または抗体重鎖の定常領域を指す。

【００５８】

抗体またはポリペプチドと「優先的に結合する」または「特異的に結合する」（本明細書では同義的に使用される）エピトープは、当技術分野においてよく理解されている用語であり、そのような特異的または優先的結合を決定する方法も、当技術分野においてよく知られている。ある分子は、その分子が、代わりの細胞または物質と反応または会合するのに比べてより高い頻度で、より速く、より長時間および／またはより高い親和性で特定の細胞または物質と反応または会合する場合に、「特異的結合」または「優先的結合」を示すと言われる。ある抗体は、それが他の物質と結合するのに比べてより高い親和性、結合力で、より容易に、および／またはより長時間結合する場合に、ある標的に「特異的に結合」しまたは「優先的に結合」する。例えば、$Aβ_{1～40}$エピトープと特異的または優先的に結合する抗体は、その抗体が他の$Aβ_{1～40}$エピトープまたは非$Aβ_{1～40}$エピトープと結合するのに比べてより高い親和性、結合力で、より容易に、および／またはより長時間このエピトープと結合する抗体である。この定義を読むことによっても、当然のことながら、例えば、第１の標的と特異的または優先的に結合する抗体（または部分もしくはエピトープ）は、第２の標的と特異的または優先的に結合しても結合しなくてもよい。したがって、「特異的結合」または「優先的結合」は、必ずしも（それも含まれてよいが）排他的な結合を必要としない。一般的に、結合への言及は、優先的結合を意味するが、必ずしもそうではない。

【００５９】

本明細書で使用する「実質的に純粋な」は、少なくとも５０％純粋（すなわち、混入物を含まない）、より好ましくは少なくとも９０％純粋、より好ましくは少なくとも９５％純粋、より好ましくは少なくとも９８％純粋、より好ましくは少なくとも９９％純粋であ

る材料を指す。

【００６０】

「宿主細胞」には、ポリヌクレオチド挿入物を組み入れるための１種または複数のベクターのレシピエントとなり得るか、またはレシピエントであった個々の細胞または細胞培養物が含まれる。宿主細胞には、単一宿主細胞の子孫が含まれ、その子孫は、自然突然変異、偶発的突然変異、または意図的突然変異によって元の親細胞と必ずしも完全に同一（形態学的に、またはゲノムＤＮＡ相補体として）でなくてもよい。宿主細胞には、本発明の１種または複数のポリヌクレオチドをｉｎ　ｖｉｖｏで形質移入した細胞が含まれる。

【００６１】

用語「Ｆｃ領域」は、免疫グロブリン重鎖のＣ末端領域を定義するのに使用される。「Ｆｃ領域」は、天然配列Ｆｃ領域または変異体Ｆｃ領域であってよい。免疫グロブリン重鎖のＦｃ領域の境界は、変わることがあるが、ヒトＩｇＧ重鎖Ｆｃ領域は、通常、Ｃｙｓ２２６位のアミノ酸残基、またはＰｒｏ２３０から、そのカルボキシル末端に及ぶと定義される。Ｆｃ領域における残基のナンバリングは、ＫａｂａｔにおけるようなＥＵインデックスのナンバリングである。Ｋａｂａｔ他、Ｓｅｑｕｅｎｃｅｓ　ｏｆ　Ｐｒｏｔｅｉｎｓ　ｏｆ　Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｉｃａｌ　Ｉｎｔｅｒｅｓｔ、第５版、Ｐｕｂｌｉｃ　Ｈｅａｌｔｈ　Ｓｅｒｖｉｃｅ、Ｎａｔｉｏｎａｌ　Ｉｎｓｔｉｔｕｔｅｓ　ｏｆ　Ｈｅａｌｔｈ、Ｂｅｔｈｅｓｄａ、Ｍｄ．、１９９１。一般的に、免疫グロブリンのＦｃ領域は、２個の定常ドメイン、ＣＨ２およびＣＨ３を含む。

【００６２】

本明細書で使用する「Ｆｃ受容体」および「ＦｃＲ」は、抗体のＦｃ領域と結合する受容体について記載する。好ましいＦｃＲは、天然配列ヒトＦｃＲである。さらに、好ましいＦｃＲは、ＩｇＧ抗体と結合するＦｃＲ（γ受容体）であり、ＦｃγＲＩ、ＦｃγＲＩＩ、およびＦｃγＲＩＩＩサブクラスの受容体が含まれ、これらの受容体の対立遺伝子変異体および選択スプライシングされた形態が含まれる。ＦｃγＲＩＩ受容体には、ＦｃγＲＩＩＡ（「活性化受容体」）およびＦｃγＲＩＩＢ（「阻害性受容体」）が含まれ、これらは、その細胞質ドメインが主に異なる類似のアミノ酸配列を有する。ＦｃＲについては、ＲａｖｅｔｃｈおよびＫｉｎｅｔ、１９９１、Ａｎｎ．Ｒｅｖ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．、９：４５７～９２；Ｃａｐｅｌ他、１９９４、Ｉｍｍｕｎｏｍｅｔｈｏｄｓ、４：２５～３４；およびｄｅ　Ｈａａｓ他、１９９５、Ｊ．Ｌａｂ．Ｃｌｉｎ．Ｍｅｄ．、１２６：３３０～４１に概説されている。「ＦｃＲ」には、母体ＩｇＧの胎児への移動を担っている新生児受容体ＦｃＲｎも含まれる（Ｇｕｙｅｒ他、１９７６、Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．、１１７：５８７；およびＫｉｍ他、１９９４、Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．、２４：２４９）。

【００６３】

「補体依存性細胞障害」および「ＣＤＣ」は、補体の存在下で標的を溶解することを指す。補体活性化経路は、補体系の第１成分（Ｃ１ｑ）が、同種抗原と複合体を形成した分子（例えば、抗体）と結合することによって開始される。補体活性化を評価するため、ＣＤＣアッセイを、例えば、Ｇａｚｚａｎｏ－Ｓａｎｔｏｒｏ他、Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．Ｍｅｔｈｏｄｓ、２０２：１６３（１９９６）に記載されているように行うことができる。

【００６４】

「機能的Ｆｃ領域」は、天然配列Ｆｃ領域の少なくとも１つのエフェクター機能を有する。例示的な「エフェクター機能」には、Ｃ１ｑ結合、補体依存性細胞障害（ＣＤＣ）、Ｆｃ受容体結合、抗体依存性細胞媒介性細胞障害（ＡＤＣＣ）、食作用、細胞表面受容体（例えば、Ｂ細胞受容体；ＢＣＲ）のダウンレギュレーションが含まれる。一般的に、そのようなエフェクター機能は、結合ドメイン（例えば、抗体可変ドメイン）と組み合わせられるＦｃ領域を必要とし、そのような抗体エフェクター機能を評価するための当技術分野において知られている様々なアッセイを用いて評価することができる。

【００６５】

「天然配列Ｆｃ領域」は、天然に見出されるＦｃ領域のアミノ酸配列と同一のアミノ酸配列を含む。「変異体Ｆｃ領域」は、少なくとも１個のアミノ酸改変によって天然配列Ｆ

ｃ領域のアミノ酸配列とは異なるアミノ酸配列を含むが、天然配列Ｆｃ領域の少なくとも１つのエフェクター機能を保持する。変異体Ｆｃ領域は、天然配列Ｆｃ領域または親ポリペプチドのＦｃ領域に比べて少なくとも１個のアミノ酸置換、例えば、天然配列Ｆｃ領域または親ポリペプチドのＦｃ領域における約１～約１０個のアミノ酸置換、好ましくは約１～約５個のアミノ酸置換を有することが好ましい。本明細書における変異体Ｆｃ領域は、天然配列Ｆｃ領域および／または親ポリペプチドのＦｃ領域と少なくとも約８０％の配列同一性、最も好ましくはそれらとの少なくとも約９０％の配列同一性、より好ましくはそれらとの少なくとも約９５％、少なくとも約９６％、少なくとも約９７％、少なくとも約９８％、少なくとも約９９％の配列同一性を有することが好ましいであろう。

【００６６】

本明細書で使用する「抗体依存性細胞媒介性細胞障害」および「ＡＤＣＣ」は、Ｆｃ受容体（ＦｃＲ）を発現する非特異的細胞障害性細胞（例えば、ナチュラルキラー（ＮＫ）細胞、好中球、およびマクロファージ）が、標的細胞上に結合した抗体を認識し、続いて標的細胞の溶解を引き起こす、細胞媒介性反応を指す。関心のある分子のＡＤＣＣ活性は、米国特許第５，５００，３６２号または第５，８２１，３３７号に記載されているアッセイなどのｉｎ　ｖｉｔｒｏＡＤＣＣアッセイを用いて評価することができる。そのようなアッセイに有用なエフェクター細胞には、末梢血単核細胞（ＰＢＭＣ）およびＮＫ細胞が含まれる。代替方法として、またはさらに、関心のある分子のＡＤＣＣ活性は、例えば、Ｃｌｙｎｅｓ他、１９９８、ＰＮＡＳ（ＵＳＡ）、９５：６５２～６５６に開示されているモデルなどの動物モデルにおいて、ｉｎ　ｖｉｖｏで評価することができる。

【００６７】

本明細書で使用する「有効用量の」または「有効量の」薬物、化合物、または医薬組成物は、有益な、または望ましい結果を得るのに十分な量である。予防的使用の場合、有益な、または望ましい結果には、疾患の生化学的、組織学的および／または行動的症状、疾患の発生中に現れる疾患の合併症および中間的な病理学的表現型を含む疾患の危険性を排除または低減すること、疾患の重症度を軽減すること、または疾患の発症を遅らせることなどの結果が含まれる。治療的使用の場合、有益な、または望ましい結果には、網膜機能の保護もしくは回復または視力の保存または回復などの臨床結果が含まれるが、これらに限定されるものではない。有効用量は、１回または複数回の投与で投与することができる。本発明の目的にとって、有効用量の薬物、化合物、または医薬組成物は、直接的か間接的のどちらかで予防的または治療的な治療を行うのに十分な量である。臨床的文脈において理解されるように、有効用量の薬物、化合物、または医薬組成物は、別の薬物、化合物、または医薬組成物と併せて得られても得られなくてもよい。したがって、「有効用量」は、１種または複数の治療剤を投与するという文脈において考慮されることがあり、単一の薬剤は、１種または複数の他の薬剤と併せて、望ましい結果が得られることがあるか、または得られる場合に、有効量で与えられたと見なすことができる。

【００６８】

本明細書で使用する「治療」または「治療すること」は、臨床結果を含む有益な、または望ましい結果を得るためのアプローチである。本発明の目的にとって、有益な、または望ましい結果には、網膜機能を回復すること、予防することまたは保護することが含まれるが、これらに限定されるものではない。

【００６９】

「Ａβペプチドの生物学的効果」または「Ａβ生物学的活性」は、直接的または間接的であってよい眼科疾患におけるＡβの影響を意味し、理論に束縛されることなく、脂質輸送調節不全におけるＡβの関与が含まれる。間接的影響には、網膜機能および視力に対する影響を有するＡβが含まれるが、これに限定されるものではない。

【００７０】

本明細書で使用する眼科疾患の進行を「遅らせること」は、疾患の発生を猶予、妨害、減速、遅延、安定化、および／または延期することを意味する。この遅延は、治療されている疾患および／または個体の病歴に応じて、様々な長さの時間の遅延であってよい。当

業者には明らかなように、十分な、または有意な遅延は、実際に、個体が疾患を発生しないという点で、予防を包含する。眼科疾患の発生を「遅らせる」方法は、その方法を使用しないことに比較した場合に、所与の時間枠で疾患発生の確率を軽減し、および／または所与の時間枠で疾患の程度を軽減する方法である。そのような比較は、通常、統計的に有意な数の対象を用いる臨床試験に基づいている。

【００７１】

眼科疾患の「発生」は、個体内の眼科疾患の発症および／または進行を意味する。眼科疾患の発生は、本明細書に記載されているような標準的臨床技法を用いて検出可能である。しかしながら、発生は、初期に検出不可能なことがある疾患進行も指す。本発明の目的にとって、進行は、この場合には、標準的眼科検査により、またはより特殊化した試験によって決定されるように、疾患状態の生物学的過程を指す。様々な診断テストには、視野、視力、フルオレセイン血管造影、網膜電図、光コヒーレンストモグラフィー（ＯＣＴ）、視覚誘発電位（ＶＥＰ）、インドシアニングリーン、色覚、アムスラーグリッド、眼内圧および当業者に知られている他の診断ツールが含まれるが、これらに限定されるものではない。ＡＭＤの診断テストには、とりわけ、視力、眼底鏡検査、フルオレセイン血管造影、インドシアニングリーン、および光コヒーレンストモグラフィー（ＯＣＴ）が含まれるが、これらに限定されるものではない。「発生」には、出現、再発および発症が含まれる。本明細書で使用する眼科疾患の「発症」または「出現」には、初期の発症および／または再発が含まれる。

【００７２】

本明細書で使用する網膜機能を「保護すること」または網膜機能の「保護」は、網膜機能を安定化または保存することを指す。本明細書で使用する網膜機能の「回復」は、事前の損傷後の網膜機能の回復を指す。網膜機能の保護または回復は、とりわけ視力、網膜電図、視野、眼底検査、フルオレセイン血管造影、インドシアニングリーン、および光コヒーレンストモグラフィー（ＯＣＴ）などの上述の眼科診断ツールのいずれかによって測定されるように、統計的に有意な結果（すなわち、ｐ＜０．０５）について測定することにより決定することができる。例えば、下の実施例４に示すように、網膜機能の統計的に有意な保護または回復は、網膜電図におけるｂ波振幅の回復によって示された（ｐ＝０．００８）。

【００７３】

視力の「保存」または「回復」は、標準的視力表ならびに当技術分野においてよく知られている様々な眼科診断ツールによって測定することができる。

【００７４】

本明細書で使用する「併せた」投与には、同時投与および／または異なった時点での投与が含まれる。併せた投与は、同時処方としての投与または別々の組成物としての投与も包含する。本明細書で使用する併せた投与は、抗Ａβ抗体および別の薬剤が個体に投与される任意の環境を包含するように意図されており、同時に、および／または別々に起きることがある。本明細書でさらに議論するように、当然のことながら、抗Ａβ抗体および他の薬剤は、様々な投与頻度または間隔で投与することができる。例えば、抗Ａβ抗体は、毎週投与することができ、一方、他の薬剤は、より低い頻度で投与することができる。当然のことながら、抗Ａβ抗体および他の薬剤は、同じ投与経路または異なる投与経路を用いて投与することができる。

【００７５】

「生物試料」は、個体から得られる様々な試料タイプを包含し、診断アッセイまたはモニタリングアッセイで使用することができる。この定義は、生物起源の血液および他の液体試料、生検標本またはそれに由来する組織培養液もしくは細胞などの固体組織試料、およびそれらの子孫を包含する。この定義には、それらの入手後に、タンパク質もしくはポリヌクレオチドなどの特定の成分についての試薬による処理、可溶化、もしくは富化、または切片化目的の半固体もしくは固体マトリクスへの包埋などの任意の方法で操作された試料も含まれる。用語「生物試料」は、臨床試料を包含し、培養液中の細胞、細胞上清、

細胞ライセート、血清、血漿、体液、および組織試料も含まれる。

【００７６】

「個体」（あるいは、「対象」と呼ばれる）は、哺乳類、より好ましくはヒトである。哺乳類には、家畜（ウシなど）、スポーツ動物、ペット（ネコ、イヌ、ウマなど）、霊長類、マウスおよびラットが含まれるが、これらに限定されるものではない。

【００７７】

本明細書で使用する「ベクター」は、宿主細胞において、関心のある１個または複数の遺伝子または配列を送達する、好ましくは発現することができる構築物を意味する。ベクターの例には、ウイルスベクター、裸のＤＮＡまたはＲＮＡ発現ベクター、プラスミド、コスミドまたはファージベクター、カチオン性縮合剤と会合しているＤＮＡまたはＲＮＡ発現ベクター、リポソームに封止されているＤＮＡまたはＲＮＡ発現ベクター、およびプロデューサー細胞などの特定の真核細胞が含まれるが、これらに限定されるものではない。

【００７８】

本明細書で使用する「発現制御配列」は、核酸の転写を誘導する核酸配列を意味する。発現制御配列は、構成的プロモーターもしくは誘導プロモーターなどのプロモーター、またはエンハンサーであってよい。発現制御配列は、転写される核酸配列と動作可能に連結される。

【００７９】

本明細書で使用する「薬学的に許容できる担体」には、活性成分と混ぜ合わせた場合に、成分の生物学的活性を保たせ、対象の免疫系と非反応性である任意の材料が含まれる。例には、リン酸緩衝食塩溶液、水、油／水エマルジョンなどの乳剤、および様々なタイプの湿潤剤などの標準的な医薬品担体のいずれかが含まれるが、これらに限定されるものではない。エアロゾルまたは非経口投与に好ましい希釈剤は、リン酸緩衝溶液または普通の（０．９％）食塩水である。そのような担体を含む組成物は、よく知られている従来の方法により製剤化される（例えば、Ｒｅｍｉｎｇｔｏｎ’ｓ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ Ｓｃｉｅｎｃｅｓ、第１８版、Ａ．Ｇｅｎｎａｒｏ編、Ｍａｃｋ Ｐｕｂｌｉｓｈｉｎｇ Ｃｏ．、Ｅａｓｔｏｎ、ＰＡ、１９９０；およびＲｅｍｉｎｇｔｏｎ、Ｔｈｅ Ｓｃｉｅｎｃｅ ａｎｄ Ｐｒａｃｔｉｃｅ ｏｆ Ｐｈａｒｍａｃｙ第２０版、Ｍａｃｋ Ｐｕｂｌｉｓｈｉｎｇ、２０００を参照）。

【００８０】

本明細書で使用する用語「k_{on}」は、抗体の抗原との会合に関するオン速度定数を指すことが意図されている。

【００８１】

本明細書で使用する用語「k_{off}」は、抗体／抗原複合体からの抗体の解離に関するオフ速度定数を指すことが意図されている。

【００８２】

本明細書で使用する用語「K_D」は、抗体－抗原相互作用の平衡解離定数を指すことが意図されている。

【００８３】

組成物および組成物を製造する方法

抗Ａβ抗体およびポリペプチド：

Ｉ．抗体９ＴＬならびに９ＴＬ由来の抗体およびポリペプチド

本発明は、抗体９ＴＬおよび表３に示すその変異体または抗体９ＴＬに由来するポリペプチドおよび表３に示すその変異体、ならびに９ＴＬ抗体およびその変異体またはポリペプチドをコードする配列を含むポリヌクレオチドを含む医薬組成物を含む組成物を包含する。本明細書で使用する組成物は、$Aβ_{1\sim40}$のＣ末端と結合する１個または複数の抗体またはポリペプチド（抗体であっても抗体でなくてもよい）および／または$Aβ_{1\sim40}$のＣ末端と結合する１個または複数の抗体またはポリペプチドをコードする配列を含む１個または複数のポリヌクレオチドを含む。これらの組成物は、当技術分野でよく知られ

ている、緩衝液を含む薬学的に許容できる賦形剤などの適当な賦形剤をさらに含むことができる。

【００８４】

本発明の抗体およびポリペプチドは、以下の特徴、すなわち、（ａ）Ａβ$_{1\sim40}$のＣ末端ペプチド２８～４０と結合するが、Ａβ１～４２またはＡβ１～４３と有意に結合しない、（ｂ）Ａβ$_{1\sim40}$のＣ末端ペプチド３３～４０と結合する、（ｃ）対象におけるアミロイドプラークの形成を抑制する、（ｄ）対象の眼におけるアミロイドプラークを低減する、（ｅ）加齢性黄斑変性症（萎縮型と滲出型の双方）、緑内障、糖尿病性網膜症（黄斑浮腫を含む）および他の関連する網膜変性疾患を含むがこれらに限定されない眼科疾患の１個または複数の症状を治療、予防、軽減する、（ｆ）網膜機能の有意な保護または回復を引き起こす、および（ｇ）視力の有意な保存または回復を引き起こすうちのいずれか（１個または複数）を特徴とする。

【００８５】

本発明の抗体およびポリペプチドは、他の報告された抗Ａβ抗体と対照的に、望ましい安全性プロファイルも示すことがある。

【００８６】

したがって、本発明は、以下のうちのいずれか、または以下の、すなわち、（ａ）抗体９ＴＬまたは表３に示すその変異体、（ｂ）抗体９ＴＬまたは表３に示すその変異体のフラグメントもしくは領域、（ｃ）抗体９ＴＬまたは表３に示すその変異体の軽鎖、（ｄ）抗体９ＴＬまたは表３に示すその変異体の重鎖、（ｅ）抗体９ＴＬまたは表３に示すその変異体の軽鎖および／または重鎖由来の１個または複数の可変領域、（ｆ）抗体９ＴＬまたは表３に示すその変異体の１個または複数のＣＤＲ（１、２、３、４、５または６個のＣＤＲ）、（ｇ）抗体９ＴＬの重鎖由来のＣＤＲ　Ｈ３、（ｈ）抗体９ＴＬまたは表３に示すその変異体の軽鎖由来のＣＤＲ　Ｌ３、（ｉ）抗体９ＴＬまたは表３に示すその変異体の軽鎖由来の３個のＣＤＲ、（ｊ）抗体９ＴＬまたは表３に示すその変異体の重鎖由来の３個のＣＤＲ、（ｋ）抗体９ＴＬまたは表３に示すその変異体の軽鎖由来の３個のＣＤＲおよび重鎖由来の３個のＣＤＲ、および（ｌ）（ｂ）から（ｋ）までのいずれか１個を含む抗体のうちのいずれかを含む組成物（医薬組成物を含む）を提供する。本発明は、上記のいずれか１個または複数を含むポリペプチドも提供する。

【００８７】

抗体９ＴＬのＣＤＲ部分（ＣｈｏｔｈｉａおよびＫａｂａｔ　ＣＤＲを含む）を図１に図式的に示す。ＣＤＲ領域の決定は、当技術分野の技能の十分に範囲内である。当然のことながら、一部の実施形態において、ＣＤＲは、Ｋａｂａｔ　ＣＤＲとＣｈｏｔｈｉａ　ＣＤＲの組合せ（「複合ＣＤＲ」または「拡大ＣＤＲ」とも呼ばれる）であってよい。一部の実施形態において、ＣＤＲは、Ｋａｂａｔ　ＣＤＲである。他の実施形態において、ＣＤＲは、Ｃｈｏｔｉａ　ＣＤＲである。換言すれば、２個以上のＣＤＲの実施形態において、ＣＤＲは、Ｋａｂａｔ、Ｃｈｏｔｈｉａ、組合せＣＤＲ、またはそれらの組合せのうちのいずれであってもよい。

【００８８】

一部の実施形態において、本発明は、９ＴＬまたは表３に示すその変異体の少なくとも１個のＣＤＲ、少なくとも２個、少なくとも３個、少なくとも４個、少なくとも５個または６個すべてのＣＤＲと実質的に同一である少なくとも１個のＣＤＲ、少なくとも２個、少なくとも３個、または少なくとも４個、少なくとも５個、または６個すべてのＣＤＲを含むポリペプチド（抗体であっても抗体でなくてもよい）を提供する。他の実施形態には、９ＴＬまたは９ＴＬに由来する少なくとも２、３、４、５または６個のＣＤＲと実質的に同一である少なくとも２、３、４、５、または６個のＣＤＲを有する抗体が含まれる。一部の実施形態において、少なくとも１、２、３、４、５、または６個のＣＤＲは、９ＴＬまたは表３に示すその変異体の少なくとも１、２、３、４、５または６個のＣＤＲと、少なくとも約８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％同一である。当然のことながら、本発明の目的のために、結合

特異性および／または全体的活性は、一般的に保持されるが、活性の程度は、９ＴＬまたは表３に示すその変異体に比較して異なることがある（高めまたは低めであってよい）。

【００８９】

本発明は、以下の、すなわち、９ＴＬまたは表３に示すその変異体の配列の少なくとも５個の隣接するアミノ酸、少なくとも８個の隣接するアミノ酸、少なくとも約１０個の隣接するアミノ酸、少なくとも約１５個の隣接するアミノ酸、少なくとも約２０個の隣接するアミノ酸、少なくとも約２５個の隣接するアミノ酸、少なくとも約３０個の隣接するアミノ酸のうちのいずれかを有する９ＴＬまたは表３に示すその変異体のアミノ酸配列を含み、アミノ酸のうちの少なくとも３個は、９ＴＬ（図１）または表３に示すその変異体の可変領域由来であるポリペプチド（抗体であっても抗体でなくてもよい）も提供する。一実施形態において、可変領域は、９ＴＬの軽鎖由来である。別の実施形態において、可変領域は、９ＴＬの重鎖由来である。例示的ポリペプチドは、９ＴＬの重鎖可変領域と軽鎖可変領域の双方由来の隣接するアミノ酸（上記に記載されている長さ）を有する。別の実施形態において、５個（またはそれ以上）の隣接するアミノ酸は、図１に示す９ＴＬの補体性決定領域（ＣＤＲ）由来である。一部の実施形態において、隣接するアミノ酸は、９ＴＬの可変領域由来である。

【００９０】

ＩＩ．抗体６Ｇならびに６Ｇ由来の抗体およびポリペプチド

本発明は、$Aβ_{1～40}$、$Aβ_{1～42}$、および$Aβ_{1～43}$と結合する抗体またはポリペプチドを投与することを含む眼科疾患を治療する方法をさらに提供する。一部の実施形態において、抗体またはポリペプチドは、$Aβ_{1～42}$、および$Aβ_{1～43}$との結合よりも高い親和性で$Aβ_{1～40}$と結合する。一部の実施形態において、抗体は、$Aβ_{1～36}$、$Aβ_{1～37}$、$Aβ_{1～38}$、および$Aβ_{1～39}$と結合する。一部の実施形態において、抗体は、$Aβ_{22～35}$と結合する。一部の実施形態において、抗体は、$Aβ_{28～40}$と結合する。一部の実施形態において、抗体またはポリペプチドは、アミノ酸２５～３４および４０が含まれる$Aβ_{1～40}$上のエピトープと結合する。

【００９１】

本発明は、本明細書に記載されている抗体もしくはポリペプチドのうちのいずれか（抗体６Ｇおよび表８に示すその変異体または抗体６Ｇおよび表８に示すその変異体に由来するポリペプチド）、または本明細書に記載されているポリヌクレオチドを含む医薬組成物を投与することを含む眼科疾患を治療する方法も提供する。本明細書で使用する組成物は、$Aβ_{1～40}$のＣ末端と結合する１個または複数の抗体またはポリペプチド（抗体であっても抗体でなくてもよい）および／または$Aβ_{1～40}$のＣ末端と結合する１個または複数の抗体またはポリペプチドをコードする配列を含む１個または複数のポリヌクレオチドを含む。これらの組成物は、当技術分野でよく知られている、緩衝液を含む薬学的に許容できる賦形剤などの適当な賦形剤をさらに含むことができる。

【００９２】

本発明の抗体およびポリペプチドは、以下の特徴、すなわち、（ａ）$Aβ_{1～40}$、$Aβ_{1～42}$、および$Aβ_{1～43}$と結合する、（ｂ）$Aβ_{1～42}$および$Aβ_{1～43}$よりも$Aβ_{1～40}$と、より高い親和性結合で$Aβ_{1～40}$、$Aβ_{1～42}$、および$Aβ_{1～43}$と結合する、（ｃ）アミノ酸２５～３４および４０が含まれる$Aβ_{1～40}$上のエピトープと結合する、（ｄ）$Aβ_{1～40}$との結合と比較して、より低い親和性だが$Aβ_{1～36}$、$Aβ_{1～37}$、$Aβ_{1～38}$および$Aβ_{1～39}$と結合する、（ｅ）約１μＭ未満のK_Dで$Aβ_{22～37}$と結合する、（ｆ）$Aβ_{22～35}$と結合する、（ｇ）$Aβ_{28～40}$と結合する、（ｈ）細胞中で発現されるＡＰＰと結合しない、（ｉ）対象の眼におけるアミロイドプラークを低減する、（ｊ）加齢性黄斑変性症（萎縮型と滲出型の双方）、緑内障、糖尿病性網膜症（黄斑浮腫を含む）および他の関連する網膜変性疾患を含むがこれらに限定されない眼科疾患の１個または複数の症状を治療、予防、軽減する、（ｋ）網膜機能の有意な保護または回復を引き起こす、および（ｌ）視力の有意な保存または回復を引き起こすうちのいずれか（１個または複数）を特徴とする。本発明の抗体およ

びポリペプチドは、本明細書に記載されているエフェクター機能障害も有することもある。エフェクター機能障害を有する抗体およびポリペプチドは、他の報告された抗Ａβ抗体と対照的に、望ましい安全性プロファイルも示すことがある。例えば、本発明の組成物は、有意な、または許容できないレベルの、脳脈管系における出血（脳出血）、髄膜脳炎（磁気共鳴スキャンの変化を含む）、脳脊髄液における白血球数の上昇、中枢神経系の炎症のうちのいずれか１個または複数を引き起こさないことがある。

【００９３】

したがって、本発明は、以下のうちのいずれか、または以下の、すなわち、（ａ）抗体６Ｇまたは表８に示すその変異体、ｂ）抗体６Ｇまたは表８に示すその変異体のフラグメントまたは領域、ｃ）抗体６Ｇまたは表８に示すその変異体の軽鎖、ｄ）抗体６Ｇまたは表８に示すその変異体の重鎖、ｅ）抗体６Ｇまたは表８に示すその変異体の軽鎖および／または重鎖由来の１個または複数の可変領域、ｆ）抗体６Ｇまたは表８に示すその変異体の１個または複数のＣＤＲ（１、２、３、４、５または６個のＣＤＲ）、（ｇ）抗体６Ｇの重鎖由来のＣＤＲ　Ｈ３、（ｈ）抗体６Ｇまたは表８に示すその変異体の軽鎖由来のＣＤＲ　Ｌ３、（ｉ）抗体６Ｇまたは表８に示すその変異体の軽鎖由来の３個のＣＤＲ、（ｊ）抗体６Ｇまたは表８に示すその変異体の重鎖由来の３個のＣＤＲ、（ｋ）抗体６Ｇまたは表８に示すその変異体の軽鎖由来の３個のＣＤＲおよび重鎖由来の３個のＣＤＲ、および（ｌ）（ｂ）から（ｋ）までのうちのいずれか１個を含む抗体のうちのいずれかを含む組成物（医薬組成物を含む）を提供する。本発明は、上記のうちのいずれか１個または複数を含むポリペプチドも提供する。

【００９４】

抗体６ＧのＣＤＲ部分（ＣｈｏｔｈｉａおよびＫａｂａｔ　ＣＤＲを含む）を図８に図式的に示す。ＣＤＲ領域の決定は、当技術分野の技能の十分に範囲内である。

【００９５】

一部の実施形態において、本発明は、６Ｇまたは表８に示すその変異体の少なくとも１個のＣＤＲ、少なくとも２個、少なくとも３個、少なくとも４個、少なくとも５個または６個すべてのＣＤＲと実質的に同一である少なくとも１個のＣＤＲ、少なくとも２個、少なくとも３個、または少なくとも４個、少なくとも５個、または６個すべてのＣＤＲを含むポリペプチド（抗体であっても抗体でなくてもよい）を提供する。他の実施形態には、６Ｇまたは６Ｇ由来の少なくとも２、３、４、５または６個のＣＤＲと実質的に同一である少なくとも２、３、４、５、または６個のＣＤＲを有する抗体が含まれる。一部の実施形態において、少なくとも１、２、３、４、５、または６個のＣＤＲは、抗体６Ｇまたは表８に示すその変異体の少なくとも１、２、３、４、５または６個のＣＤＲと、少なくとも約８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％同一である。当然のことながら、本発明の目的のために、結合特異性および／または全体的活性は、一般的に保持されるが、活性の程度は、６Ｇまたは表８に示すその変異体に比較して異なることがある（高めまたは低めであってよい）。

【００９６】

本発明は、以下の、すなわち、６Ｇまたは表８に示すその変異体の配列の少なくとも５個の隣接するアミノ酸、少なくとも８個の隣接するアミノ酸、少なくとも約１０個の隣接するアミノ酸、少なくとも約１５個の隣接するアミノ酸、少なくとも約２０個の隣接するアミノ酸、少なくとも約２５個の隣接するアミノ酸、少なくとも約３０個の隣接するアミノ酸のうちのいずれかを有する６Ｇまたは表８に示すその変異体のアミノ酸配列を含み、アミノ酸のうちの少なくとも３個は、６Ｇ（図）または表８に示すその変異体の可変領域由来であるポリペプチド（抗体であっても抗体でなくてもよい）も提供する。一実施形態において、可変領域は、６Ｇの軽鎖由来である。別の実施形態において、可変領域は、６Ｇの重鎖由来である。例示的ポリペプチドは、６Ｇの重鎖可変領域と軽鎖可変領域の双方由来の隣接するアミノ酸（上記に記載されている長さ）を有する。別の実施形態において、５個（またはそれ以上）の隣接するアミノ酸は、図８に示す６Ｇの補体性決定領域（ＣＤＲ）由来である。一部の実施形態において、隣接するアミノ酸は、６Ｇの可変領域由来

である。

【００９７】

本発明の抗体およびポリペプチドの結合親和性は、以下に記載されている例示的実施形態のように、異なることがあり、特定の値または範囲である必要はない（しかし、特定の値または範囲であってもよい）。Ａβペプチド（Ａβ$_{1～40}$、Ａβ$_{1～42}$またはＡβ$_{1～43}$ペプチドを含む）に対する本発明の抗体およびポリペプチドの結合親和性（K_D）は、約０．１０～約０．８０ｎＭ、約０．１５～約０．７５ｎＭおよび約０．１８～約０．７２ｎＭであってよい。一部の実施形態において、結合親和性は、約２ｐＭ、約５ｐＭ、約１０ｐＭ、約１５ｐＭ、約２０ｐＭ、約４０ｐＭ、または約４０ｐＭ超である。一実施形態において、結合親和性は、約２ｐＭ～２２ｐＭである。他の実施形態において、結合親和性は、約１０ｎＭ未満、約５ｎＭ、約１ｎＭ、約９００ｐＭ、約８００ｐＭ、約７００ｐＭ、約６００ｐＭ、約５００ｐＭ、約４００ｐＭ、約３００ｐＭ、約２００ｐＭ、約１５０ｐＭ、約１００ｐＭ、約９０ｐＭ、約８０ｐＭ、約７０ｐＭ、約６０ｐＭ、約５０ｐＭ、約４０ｐＭ、約３０ｐＭ、約１０ｐＭである。一部の実施形態において、結合親和性は、約１０ｎＭである。他の実施形態において、結合親和性は、約１０ｎＭ未満、約５０ｎＭ未満、約１００ｎＭ未満、約１５０ｎＭ未満、約２００ｎＭ未満、約２５０ｎＭ未満、約５００ｎＭ未満、または約１０００ｎＭ未満である。他の実施形態において、結合親和性は、約５ｎＭ未満である。他の実施形態において、結合親和性は、約１ｎＭ未満である。他の実施形態において、結合親和性は、約０．１ｎＭまたは約０．０７ｎＭである。他の実施形態において、結合親和性は、約０．１ｎＭ未満または約０．０７ｎＭ未満である。他の実施形態において、結合親和性は、約１０ｎＭ、約５ｎＭ、約１ｎＭ、約９００ｐＭ、約８００ｐＭ、約７００ｐＭ、約６００ｐＭ、約５００ｐＭ、約４００ｐＭ、約３００ｐＭ、約２００ｐＭ、約１５０ｐＭ、約１００ｐＭ、約９０ｐＭ、約８０ｐＭ、約７０ｐＭ、約６０ｐＭ、約５０ｐＭ、約４０ｐＭ、約３０ｐＭ、約１０ｐＭのうちのいずれかから約２ｐＭ、約５ｐＭ、約１０ｐＭ、約１５ｐＭ、約２０ｐＭ、または約４０ｐＭのうちのいずれかまでである。一部の実施形態において、結合親和性は、約１０ｎＭ、約５ｎＭ、約１ｎＭ、約９００ｐＭ、約８００ｐＭ、約７００ｐＭ、約６００ｐＭ、約５００ｐＭ、約４００ｐＭ、約３００ｐＭ、約２００ｐＭ、約１５０ｐＭ、約１００ｐＭ、約９０ｐＭ、約８０ｐＭ、約７０ｐＭ、約６０ｐＭ、約５０ｐＭ、約４０ｐＭ、約３０ｐＭ、約１０ｐＭのうちのいずれかである。さらに他の実施形態において、結合親和性は、約２ｐＭ、約５ｐＭ、約１０ｐＭ、約１５ｐＭ、約２０ｐＭ、約４０ｐＭ、または約４０ｐＭ超である。本発明の抗体およびポリペプチドは、Ａβ$_{1～40}$、Ａβ$_{1～42}$および／またはＡβ$_{1～43}$ペプチドの組合せと結合することができる。一実施形態において、抗体およびポリペプチドは、少なくともＡβ$_{1～40}$およびＡβ$_{1～42}$ペプチドと結合する。

【００９８】

本発明の抗体およびポリペプチドは、Ａβ$_{1～36}$、Ａβ$_{1～37}$、Ａβ$_{1～38}$、Ａβ$_{1～39}$、Ａβ$_{1～42}$およびＡβ$_{1～43}$のうちのいずれか１個または複数とも結合することができるが、一部の実施形態において、これらのペプチドのうちのいずれか１個または複数に対する結合親和性は、Ａβ$_{1～40}$に対するそれらの結合親和性未満である。一部の実施形態において、Ａβ$_{1～36}$、Ａβ$_{1～37}$、Ａβ$_{1～38}$、Ａβ$_{1～39}$、Ａβ$_{1～42}$およびＡβ$_{1～43}$のうちのいずれか１個または複数に対する抗体またはポリペプチドのK_Dは、Ａβ$_{1～40}$に対するK_Dの少なくとも約５倍、少なくとも約１０倍、少なくとも約２０倍、少なくとも約３０倍、少なくとも約４０倍、少なくとも約５０倍、少なくとも約８０倍、少なくとも約１００倍、少なくとも約１５０倍、少なくとも約２００倍、または少なくとも約２５０倍である。

【００９９】

本発明は、これらの抗体またはポリペプチドのうちのいずれかを製造する方法も提供する。本発明の抗体は、当技術分野において知られている手順によって製造することができる。ポリペプチドは、抗体のタンパク質分解または他の分解により、上記に記載されてい

るような組み換え法（すなわち、単一または融合ポリペプチド）により、または化学合成により製造することができる。抗体のポリペプチド、特に約５０アミノ酸までの短めのポリペプチドは、化学合成によって好都合に製造される。化学合成の方法は、当技術分野において知られており、市販されている。例えば、抗体は、固相法を用いる自動ポリペプチド合成装置によって製造することができるであろう。米国特許第５，８０７，７１５号、第４，８１６，５６７号、および第６，３３１、４１５号も参照されたい。

【０１００】

別の代替法において、抗体は、当技術分野においてよく知られている手順を用いて組み換え的に製造することができる。一実施形態において、ポリヌクレオチドは、抗体の重鎖および／または軽鎖可変領域をコードする配列を含む。別の実施形態において、ヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチドは、発現または増殖のために１個または複数のベクター中にクローニングされる。関心のある抗体をコードする配列を、宿主細胞においてベクター内に維持することができ、次いで、宿主細胞を、将来使用するために拡大して冷凍することができる。ベクター（発現ベクターを含む）および宿主細胞については、本明細書においてさらに記載される。

【０１０１】

本発明は、９ＴＬおよび６Ｇなどの本発明の抗体の単鎖可変領域フラグメント（「ｓｃＦｖ」）も包含する。単鎖可変領域フラグメントは、短い連結ペプチドを用いることにより軽鎖および／または重鎖可変領域を連結することによって製造される。Ｂｉｒｄ他（１９８８）Ｓｃｉｅｎｃｅ　２４２：４２３～４２６。連結ペプチドの一例は、一方の可変領域のカルボキシ末端と他方の可変領域のアミノ末端の間の約３．５ｎｍを架橋する（ＧＧＧＧＳ）$_3$である。他の配列のリンカーが設計され使用されている。Ｂｉｒｄ他（１９８８）。したがって、リンカーは、薬物の接続または固体支持体への接続などの追加的機能のために改変することができる。単鎖変異体は、組み換え的または合成的のどちらかで製造することができる。ｓｃＦｖの合成的製造の場合、自動合成装置を使用することができる。ｓｃＦｖの組み換え的製造の場合、ｓｃＦｖをコードするポリヌクレオチドを含有する適当なプラスミドを、適当な宿主細胞、酵母、植物、昆虫もしくは哺乳類細胞などの真核生物、または大腸菌（Ｅ．ｃｏｌｉ）などの原核生物のどちらかに導入することができる。関心のあるｓｃＦｖをコードするポリヌクレオチドは、ポリヌクレオチドのライゲーションなどのルーチンな操作によって製造することができる。得られるｓｃＦｖは、当技術分野において知られている標準的なタンパク質精製技法を用いて単離することができる。

【０１０２】

ダイアボディ（ｄｉａｂｏｄｙ）などの単鎖抗体の他の形態も包含される。ダイアボディは、ＶＨおよびＶＬドメインが単一ポリペプチド鎖上で発現され、しかし同じ鎖上の２個のドメイン間で対合させるには短すぎるリンカーを用い、それによって、そのドメインを別の鎖の相補的ドメインと対合させ、２個の抗原結合部位を作製する二価の二重特異性抗体である（例えば、Ｈｏｌｌｉｇｅｒ，Ｐ．他（１９９３）Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ　Ｓｃｉ．ＵＳＡ　９０：６４４４～６４４８；Ｐｏｌｊａｋ，Ｒ．Ｊ．他（１９９４）Ｓｔｒｕｃｔｕｒｅ　２：１１２１～１１２３を参照）。

【０１０３】

例えば、二重特異性抗体、少なくとも２個の異なる抗原、すなわちＡβ$_{1～40}$およびＡβ$_{1～42}$に対して結合特異性を有するモノクローナル抗体は、本明細書に開示されている抗体を用いて調製することができる。二重特異性抗体を製造するための方法は、当技術分野において知られている（例えば、Ｓｕｒｅｓｈ他、１９８６、Ｍｅｔｈｏｄｓ　ｉｎ　Ｅｎｚｙｍｏｌｏｇｙ　１２１：２１０を参照）。伝統的に、二重特異性抗体の組み換え的製造は、２個の重鎖が異なる特異性を有する２種の免疫グロブリン重鎖－軽鎖ペアの同時発現に基づいている（ＭｉｌｌｓｔｅｉｎおよびＣｕｅｌｌｏ、１９８３、Ｎａｔｕｒｅ　３０５、５３７～５３９）。

【０１０４】

二重特異性抗体を製造することへの一アプローチに従い、望ましい結合特異性を持つ抗体可変ドメイン（抗体－抗原結合部位）を、免疫グロブリン定常ドメイン配列と融合させる。この融合は、ヒンジ、ＣＨ２およびＣＨ３領域の少なくとも一部を含む免疫グロブリン重鎖定常ドメインとであることが好ましい。融合物のうちの少なくとも１個に存在し、軽鎖結合に必要な部位を含有する第一重鎖定常領域（ＣＨ１）を有することが好ましい。免疫グロブリン重鎖融合物および、望ましい場合、免疫グロブリン軽鎖をコードするＤＮＡは、別々の発現ベクターに挿入され、適当な宿主生物体中に同時形質導入される。これにより、構築に使用される３個のポリペプチド鎖の等しくない比が最適収量を提供する実施形態において、３個のポリペプチドフラグメントのお互いの比率を調整する際の大きな柔軟性が得られる。しかしながら、等しい比の少なくとも２個のポリペプチド鎖の発現が高収率をもたらす場合、または比が特に意味を持たない場合、２個または３個すべてのポリペプチド鎖のためのコーディング配列を１個の発現ベクターに挿入することが可能である。

【０１０５】

一アプローチにおいて、二重特異性抗体は、一方の腕における第１の結合特異性を持つハイブリッド免疫グロブリン重鎖、および他方の腕におけるハイブリッド免疫グロブリン重鎖－軽鎖対（第２の結合特異性を提供する）からなる。二重特異性分子の半分だけに免疫グロブリン軽鎖を持つこの非対称構造は、望ましくない免疫グロブリン鎖の組合せからの望ましい二重特異性化合物の分離を容易にする。このアプローチは、１９９４年３月３日に公開されたＰＣＴ公開ＷＯ９４／０４６９０に記載されている。

【０１０６】

２個の共有結合で結合した抗体を含むヘテロコンジュゲート抗体も、本発明の範囲内にある。そのような抗体は、免疫系細胞を望ましくない細胞の標的とするため（米国特許第４，６７６，９８０号）、およびＨＩＶ感染を治療するため（ＰＣＴ出願公開ＷＯ９１／００３６０およびＷＯ９２／２００３７３；ＥＰ０３０８９）に使用されている。ヘテロコンジュゲート抗体は、任意の好都合な架橋方法を用いて製造することができる。適当な架橋剤および技法は、当技術分野においてよく知られており、米国特許第４，６７６，９８０号に記載されている。

【０１０７】

キメラまたはハイブリッド抗体も、架橋剤が関わる方法を含む、合成タンパク質化学の知られている方法を用いてｉｎ　ｖｉｔｒｏで調製することができる。例えば、免疫毒素は、ジスルフィド交換反応を用い、またはチオエーテル結合を形成することにより構築することができる。この目的に適している試薬の例には、イミノチオレートおよびメチル－４－メルカプトブチルイミデートが含まれる。

【０１０８】

抗体９ＴＬの１個もしくは複数のＣＤＲまたは抗体９ＴＬに由来する１個または複数のＣＤＲを含むヒト化抗体は、当技術分野において知られている任意の方法を用いて製造することができる。例えば、４つの一般的ステップを用いてモノクローナル抗体をヒト化することができる。これらは、（１）出発抗体の軽および重可変ドメインのヌクレオチドおよび予測アミノ酸配列を決定すること、（２）ヒト化抗体を設計すること、すなわち、どの抗体フレームワーク領域をヒト化プロセス中に使用するかを決定すること、（３）実際のヒト化方法／技法および（４）ヒト化抗体の形質移入および発現である。例えば、米国特許第４，８１６，５６７号、第５，８０７，７１５号、第５，８６６，６９２号、第６，３３１，４１５号、第５，５３０，１０１号、第５，６９３，７６１号、第５，６９３，７６２号、第５，５８５，０８９号、第６，１８０，３７０号、第５，２２５，５３９号、第６，５４８，６４０号を参照されたい。

【０１０９】

組み換えヒト化抗体において、Ｆｃ部分を改変し、Ｆｃγ受容体および補体免疫系との相互作用を避けることができる。このタイプの改変は、Ｃａｍｂｒｉｄｇｅ　Ｕｎｉｖｅｒｓｉｔｙのｔｈｅ　Ｄｅｐａｒｔｍｅｎｔ　ｏｆ　ＰａｔｈｏｌｏｇｙのＭｉｋｅ　Ｃ

ｌａｒｋ博士により設計された。そのような抗体を調製するための技法は、１９９９年１１月１８に公開されたＷＯ９９／５８５７２に記載されている。

【０１１０】

例えば、定常領域を、より似ているヒト定常領域へと操作し、抗体がヒトにおける臨床試験および臨床治療に使用される場合に、免疫反応を避けることができる。例えば、米国特許第５，９９７，８６７号および第５，８６６，６９２号を参照されたい。

【０１１１】

本発明は、それらの特性に著しく影響しない機能的に等価な抗体ならびに活性および／または親和性が増強または低下した変異体を含む、抗体９ＴＬおよび６Ｇの改変形態を包含する。例えば、抗体９ＴＬまたは６Ｇのアミノ酸配列を突然変異させ、標的Ａβペプチドに対して望ましい結合親和性を持つ抗体を得ることができる。ポリペプチドの改変は当技術分野において通常の業務であり、本明細書で詳細に記載する必要はない。ポリペプチドの改変を実施例に例示する。改変されたポリペプチドの例には、機能活性を著しく有害に変化させないアミノ酸残基の保存的置換、アミノ酸の１個または複数の欠失または付加を有する、または化学的類似体が使用されたポリペプチドが含まれる。

【０１１２】

アミノ酸配列挿入物には、長さで１個の残基から１００個以上の残基を含有するポリペプチドに及ぶアミノ－および／またはカルボキシ末端融合、ならびに単一または複数のアミノ酸残基の配列内挿入が含まれる。末端挿入物の例には、Ｎ末端メチオニル残基を持つ抗体またはエピトープタグと融合された抗体が含まれる。抗体分子の他の挿入変異体には、抗体の血清半減期を増大させる酵素またはポリペプチドの抗体のＮ－またはＣ末端との融合物が含まれる。

【０１１３】

置換変異体は、除去される抗体分子中の少なくとも１個のアミノ酸残基およびその場所に挿入される異なる残基を有する。置換突然変異誘発にとって最も興味深い部位には、超可変領域が含まれるが、ＦＲ変異も企図されている。保存的置換を、表１の「保存的置換」の項目の下に示す。そのような置換が生物学的活性の変化をもたらす場合、表１で「例示的置換」と呼ばれ、またはアミノ酸クラスに関して以下でさらに記載されるように、より実質的な変化を導入し、生成物をスクリーニングすることができる。

【０１１４】

【表１】

表１：アミノ酸置換

元の残基	保存的置換	例示的置換
Ala (A)	Val	Val; Leu; Ile
Arg (R)	Lys	Lys; Gln; Asn
Asn (N)	Gln	Gln; His; Asp, Lys; Arg
Asp (D)	Glu	Glu; Asn
Cys (C)	Ser	Ser; Ala
Gln (Q)	Asn	Asn; Glu
Glu (E)	Asp	Asp; Gln
Gly (G)	Ala	Ala
His (H)	Arg	Asn; Gln; Lys; Arg
Ile (I)	Leu	Leu; Val; Met; Ala; Phe; ノルロイシン
Leu (L)	Ile	ノルロイシン; Ile; Val; Met; Ala; Phe
Lys (K)	Arg	Arg; Gln; Asn
Met (M)	Leu	Leu; Phe; Ile
Phe (F)	Tyr	Leu; Val; Ile; Ala; Tyr
Pro (P)	Ala	Ala
Ser (S)	Thr	Thr
Thr (T)	Ser	Ser
Trp (W)	Tyr	Tyr; Phe
Tyr (Y)	Phe	Trp; Phe; Thr; Ser
Val (V)	Leu	Ile; Leu; Met; Phe; Ala; ノルロイシン

【０１１５】

抗体の生物学的特性の実質的改変は、（ａ）例えば、シートコンホメーションまたはらせんコンホメーションのような置換の領域におけるポリペプチド骨格の構造、（ｂ）標的部位における分子の電荷または疎水性、または（ｃ）側鎖の大きさを維持することに対するそれらの影響が著しく異なる置換を選択することによって行うことができる。天然に存在する残基は、一般的な側鎖特性に基づいて群に分けられる。

（１）非極性：ノルロイシン、Ｍｅｔ、Ａｌａ、Ｖａｌ、Ｌｅｕ、Ｉｌｅ、
（２）電荷のない極性：Ｃｙｓ、Ｓｅｒ、Ｔｈｒ、Ａｓｎ、Ｇｌｎ、
（３）酸性（負の電荷を帯びた）：Ａｓｐ、Ｇｌｕ、
（４）塩基性（正の電荷を帯びた）；Ｌｙｓ、Ａｒｇ、
（５）鎖配向に影響する残基：Ｇｌｙ、Ｐｒｏ、および
（６）芳香族：Ｔｒｐ、Ｔｙｒ、Ｐｈｅ、Ｈｉｓ。

【０１１６】

非保存的置換は、これらのクラスのうちの１つのメンバーを別のクラスと交換することより行われる。

【０１１７】

抗体の適切なコンホメーションを維持することに関与しない任意のシステイン残基も、一般的にセリンで置換し、分子の酸化安定性を改善し、異常な架橋を防ぐことができる。逆に、１個または複数のシステイン結合を抗体に加え、その安定性、特に、抗体がＦｖフ

ラグメントなどの抗体フラグメントである場合に、その安定性を改善することができる。
【０１１８】
アミノ酸改変は、１個または複数のアミノ酸を変える、または改変することから、可変領域などの領域の完全な再設計まで及ぶことがある。可変領域の変化は、結合親和性および／または特異性を変化させることがある。一部の実施形態において、１個程度から５個の保存的アミノ酸置換は、ＣＤＲドメイン内で行われる。他の実施形態において、１個程度から３個の保存的アミノ酸置換は、ＣＤＲドメイン内で行われる。さらに他の実施形態において、ＣＤＲドメインは、ＣＤＲ　Ｈ３および／またはＣＤＲ　Ｌ３である。
【０１１９】
改変形態には、グリコシル化および非グリコシル化ポリペプチド、ならびに、例えば、様々な糖によるグリコシル化、アセチル化、およびリン酸化などの他の翻訳後改変を持つポリペプチドも含まれる。抗体は、それらの定常領域中の保存的位置でグリコシル化される（ＪｅｆｆｅｒｉｓおよびＬｕｎｄ、１９９７、Ｃｈｅｍ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．６５：１１１～１２８；ＷｒｉｇｈｔおよびＭｏｒｒｉｓｏｎ、１９９７、ＴｉｂＴＥＣＨ　１５：２６～３２）。免疫グロブリンのオリゴ糖側鎖は、タンパク質の機能（Ｂｏｙｄ他、１９９６、Ｍｏｌ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．３２：１３１１～１３１８；ＷｉｔｔｗｅおよびＨｏｗａｒｄ、１９９０、Ｂｉｏｃｈｅｍ．２９：４１７５～４１８０）ならびに糖タンパク質のコンホメーションおよび示された三次元表面に影響を及ぼすことがある糖タンパク質の部分間の分子内相互作用（ＨｅｆｆｅｒｉｓおよびＬｕｎｄ、前掲書；ＷｙｓｓおよびＷａｇｎｅｒ、１９９６、Ｃｕｒｒｅｎｔ　Ｏｐｉｎ．Ｂｉｏｔｅｃｈ．７：４０９～４１６）に影響を及ぼす。オリゴ糖も、特定の認識構造に基づき、所与の糖タンパク質を特定の分子の標的にする役目を果たすことがある。抗体のグリコシル化も、抗体依存性細胞性細胞障害（ＡＤＣＣ）に影響を及ぼすことが報告されている。特に、バイセクティングＧｌｃＮＡｃの形成を触媒するグリコシルトランスフェラーゼであるβ（１，４）－Ｎ－アセチルグルコサミニルトランスフェラーゼＩＩＩ（ＧｎＴＩＩＩ）のテトラサイクリン調節性発現を有するＣＨＯ細胞は、改善されたＡＤＣＣ活性を有することが報告されている（Ｕｍａｎａ他、１９９９、Ｍａｔｕｒｅ　Ｂｉｏｔｅｃｈ．１７：１７６～１８０）。
【０１２０】
抗体のグリコシル化は、通常、Ｎ－結合型またはＯ－結合型のどちらかである。Ｎ－結合型は、炭水化物部分のアスパラギン残基の側鎖との接続を指す。トリペプチド配列アスパラギン－Ｘ－セリン、アスパラギン－Ｘ－スレオニン、およびアスパラギン－Ｘ－システイン（Ｘは、プロリンを除く任意のアミノ酸である）は、炭水化物部分のアスパラギン側鎖との酵素的接続のための認識配列である。したがって、ポリペプチド中のこれらのトリペプチド配列のうちのどれかの存在は、潜在的なグリコシル化部位を作り出す。Ｏ－結合型グリコシル化は、糖Ｎ－アセチルガラクトサミン、ガラクトース、またはキシロースのうちの１つのヒドロキシアミノ酸、最も一般的にはセリンまたはセロトニンとの接続を指すが、５－ヒドロキシプロリンまたは５－ヒドロキシリシンも使用されることがある。
【０１２１】
抗体へのグリコシル化部位の付加は、抗体が上述のトリペプチド配列のうちの１個または複数を含有するようにアミノ酸配列を変化させることにより好都合に行われる（Ｎ－結合型グリコシル化部位のために）。その変化も、元の抗体の配列への１個または複数のセリンまたはスレオニン残基の付加、またはそれらによる置換によって行うことができる（Ｏ－結合型グリコシル化部位のために）。
【０１２２】
抗体のグリコシル化パターンも、基礎をなすヌクレオチド配列を変化させることなく変化させることができる。グリコシル化は、抗体を発現するために使用される宿主によって大きく左右される。潜在的治療薬としての組み換え糖タンパク質、例えば抗体の発現のために使用される細胞タイプは、天然の細胞であることはまれであるため、抗体のグリコシル化パターンの変化が予想される（例えば、Ｈｓｅ他、１９９７、Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅ

ｍ．２７２：９０６２～９０７０を参照）。

【０１２３】

宿主細胞の選択の他に、抗体の組み換え的製造中のグリコシル化に影響を及ぼす要因には、成長モード、培地処方、培養密度、酸素化、ｐＨ、精製スキームなどが含まれる。オリゴ糖産生に関わる特定の酵素を導入または過剰発現することを含む、特定の宿主生物体において行われるグリコシル化パターンを変化させるための様々な方法が提案されている（米国特許第５，０４７，３３５号、第５，５１０，２６１号および第５，２７８，２９９号）。グリコシル化部、または特定のタイプのグリコシル化部は、例えば、エンドグリコシダーゼＨ（Ｅｎｄｏ　Ｈ）、実施例３に記載されているようなＮ－グリコシダーゼＦ、エンドグリコシダーゼＦ１、エンドグリコシダーゼＦ２、エンドグリコシダーゼＦ３を用い、糖タンパク質から酵素的に除去することができる。さらに、組み換え宿主細胞を遺伝子操作し、特定のタイプの多糖を加工するのを不完全にすることができる。これらおよび類似の技法は、当技術分野においてよく知られている。

【０１２４】

改変の他の方法には、酵素的手段、酸化置換およびキレート化を含むがこれらに限定されない、当技術分野において知られているカップリング技法を使用することが含まれる。改変は、例えば、イムノアッセイのための標識の接続に使用することができる。改変された９ＴＬポリペプチドは、当技術分野において確立された手順を用いて製造することができ、当技術分野において知られている標準的なアッセイを用いてスクリーニングすることができ、それらの一部については、以下および実施例に記載される。

【０１２５】

本発明の一部の実施形態において、抗体は、免疫学的に不活性または部分的に不活性である、すなわち、補体媒介性溶解を誘発せず、抗体依存性細胞媒介性細胞障害（ＡＤＣＣ）を刺激せず、もしくはミクログリアを活性化しないか、または以下の、すなわち、補体媒介性溶解を誘発すること、抗体依存性細胞媒介性細胞障害（ＡＤＣＣ）を刺激すること、もしくはミクログリアを活性化することのうちのいずれか１つまたは複数において活性の低下（非改変抗体と比較して）を有する定常領域などの改変定常領域を含む。定常領域の様々な改変を用い、エフェクター機能の最適レベルおよび／または組合せを実現することができる。例えば、Ｍｏｒｇａｎ他、Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ　８６：３１９～３２４（１９９５）；Ｌｕｎｄ他、Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ　１５７：４９６３～９　１５７：４９６３～４９６９（１９９６）；Ｉｄｕｓｏｇｉｅ他、Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ　１６４：４１７８～４１８４（２０００）；Ｔａｏ他、Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ　１４３：２５９５～２６０１（１９８９）；およびＪｅｆｆｅｒｉｓ他、Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｉｃａｌ　Ｒｅｖｉｅｗｓ　１６３：５９～７６（１９９８）を参照されたい。一部の実施形態において、定常領域は、Ｅｕｒ．Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．（１９９９）２９：２６１３～２６２４；ＰＣＴ出願第ＰＣＴ／ＧＢ９９／０１４４１号；および英国特許出願第９８０９９５１．８号に記載されているように改変される。他の実施形態において、抗体は、以下の変異、すなわち、Ａ３３０Ｐ３３１からＳ３３０Ｓ３３１（野生型ＩｇＧ２ａ配列に準拠したアミノ酸ナンバリング）を含むヒト重鎖ＩｇＧ２ａ定常領域を含む。Ｅｕｒ．Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．（１９９９）２９：２６１３～２６２４。さらに他の実施形態において、定常領域は、Ｎ－結合型グリコシル化部についてアグリコシル化される。一部の実施形態において、定常領域は、定常領域中のＮ－グリコシル化部位認識配列の一部であるグリコシル化アミノ酸配列または隣接残基を突然変異させることによりＮ－結合型グリコシル化部についてアグリコシル化される。例えば、Ｎ－グリコシル化部位Ｎ２９７は、Ａ、Ｑ、Ｋ、またはＨへ突然変異させることができる。Ｔａｏ他、Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ　１４３：２５９５～２６０１（１９８９）；およびＪｅｆｆｅｒｉｓ他、Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｉｃａｌ　Ｒｅｖｉｅｗｓ　１６３：５９～７６（１９９８）を参照されたい。一部の実施形態において、定常領域は、Ｎ－結合型グリコシル化部についてアグリコシル化される。定常領域は、酵素的に（酵素ＰＮＧａｓｅによって炭水化物を除去することなど）、またはグリコシル化欠損宿主細胞における発現により、Ｎ－結合型グリコシル化部

についてアグリコシル化されてもよい。

【０１２６】

他の抗体改変形態には、１９９９年１１月１８に公開されたＰＣＴ公開ＷＯ９９／５８５７２に記載されているように改変された抗体が含まれる。これらの抗体は、標的分子を対象とする結合ドメインの他に、ヒト免疫グロブリン重鎖の定常領域のすべてまたは一部と実質的に相同なアミノ酸配列を有するエフェクタードメインを含む。これらの抗体は、有意な補体依存性溶解、または標的の細胞媒介性破壊を誘発することなく、標的分子と結合することができる。一部の実施形態において、エフェクタードメインは、ＦｃＲｎおよび／またはＦｃγＲＩＩｂと特異的に結合することができる。これらは、通常、２個以上のヒト免疫グロブリン重鎖C_H2ドメインに由来するキメラドメインに基づいている。この方法で改変された抗体は、炎症および従来の抗体療法に対する他の有害反応を避けるために、長期抗体療法で使用するのに特に適している。

【０１２７】

本発明には、親和性成熟（ａｆｆｉｎｉｔｙ　ｍａｔｕｒｅｄ）実施形態が含まれる。例えば、親和性成熟抗体は、当技術分野において知られている手順によって製造することができる（Ｍａｒｋｓ他、１９９２、Ｂｉｏ／Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ、１０：７７９～７８３；Ｂａｒｂａｓ他、１９９４、Ｐｒｏｃ　Ｎａｔ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ、ＵＳＡ　９１：３８０９～３８１３；Ｓｃｈｉｅｒ他、１９９５、Ｇｅｎｅ、１６９：１４７～１５５；Ｙｅｌｔｏｎ他、１９９５、Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．、１５５：１９９４～２００４；Ｊａｃｋｓｏｎ他、１９９５、Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．、１５４（７）：３３１０～９；Ｈａｗｋｉｎｓ他、１９９２、Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．、２２６：８８９～８９６；およびＷＯ２００４／０５８１８４）。

【０１２８】

以下の方法は、抗体の親和性を調整するため、およびＣＤＲを特徴付けるために使用することができる。抗体のＣＤＲを特徴付けることおよび／または抗体などのポリペプチドの結合親和性を変化させること（改善することなど）の一方法は、「ライブラリースキャニング突然変異誘発」と呼ばれる。一般的に、ライブラリースキャニング突然変異誘発は、以下の通り行う。ＣＤＲ中の１個または複数のアミノ酸位置を、当技術分野でよく知られている（ａｒｔ　ｒｅｃｏｇｎｉｚｅｄ）方法を用い、２個以上（３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、または２０個など）のアミノ酸で置き換える。これにより、クローンの小さなライブラリーが作製され（一部の実施形態において、分析されるアミノ酸位置ごとに１個）、各々は、２個以上のメンバーの複雑性を持つ（２個以上のアミノ酸が位置ごとに置換される場合）。一般的に、このライブラリーには、天然（非置換）アミノ酸を含むクローンが含まれる。各ライブラリーからの少数のクローン、例えば、２０～８０個のクローン（ライブラリーの複雑性に応じて）を、標的ポリペプチド（または他の結合性標的）に対する結合親和性についてスクリーニングし、結合が増加した、同じ、減少した、または結合しない候補を同定する。結合親和性を決定するための方法は、当技術分野においてよく知られている。結合親和性は、約２倍以上の結合親和性の差を検出するＢＩＡｃｏｒｅ表面プラズモン共鳴分析を用いて決定することができる。ＢＩＡｃｏｒｅは、出発抗体が、比較的高い親和性、例えば約１０ｎＭ以下のK_Dですでに結合している場合に特に有用である。ＢＩＡｃｏｒｅ表面プラズモン共鳴を用いるスクリーニングは、本明細書において実施例に記載されている。

【０１２９】

結合親和性は、Ｋｉｎｅｘａ　Ｂｉｏｃｅｎｓｏｒ、シンチレーション近接アッセイ、ＥＬＩＳＡ、ＯＲＩＧＥＮイムノアッセイ（ＩＧＥＮ）、蛍光消光、蛍光移動、および／または酵母ディスプレーを用いて決定することができる。結合親和性は、適当なバイオアッセイを用いてもスクリーニングすることができる。

【０１３０】

一部の実施形態において、ＣＤＲ中のあらゆるアミノ酸位置は、当技術分野でよく知ら

れている突然変異誘発法を用い、２０個すべての天然アミノ酸で置き換えられる（一部の実施形態において、一度に１個）（その一部は、本明細書に記載されている）。これにより、クローンの小さなライブラリーが作製され（一部の実施形態において、分析されるアミノ酸位置ごとに１個）、各々は、２０個のメンバーの複雑性を持つ（２０個すべてのアミノ酸が位置ごとに置換される場合）。

【０１３１】

一部の実施形態において、スクリーニングするべきライブラリーは、２個以上の位置に置換を含み、それらは、同じＣＤＲ中または２個以上のＣＤＲ中にあってよい。したがって、ライブラリーは、１個のＣＤＲ中で２個以上の位置に置換を含むことができる。ライブラリーは、２個以上のＣＤＲ中で２個以上の位置に置換を含むことができる。ライブラリーは、３、４、５個、またはそれ以上の位置に置換を含むことができ、前記位置は、２、３、４、５または６個のＣＤＲ中に見出される。この置換は、低冗長性コドンを用いて調製することができる。例えば、Ｂａｌｉｎｔ他、（１９９３）Ｇｅｎｅ　１３７（１）：１０９～１８の表２を参照されたい。

【０１３２】

ＣＤＲは、ＣＤＲＨ３および／またはＣＤＲＬ３であってよい。ＣＤＲは、ＣＤＲＬ１、ＣＤＲＬ２、ＣＤＲＬ３、ＣＤＲＨ１、ＣＤＲＨ２、および／またはＣＤＲＨ３のうちの１個または複数であってよい。ＣＤＲは、Ｋａｂａｔ　ＣＤＲ、Ｃｈｏｔｈｉａ　ＣＤＲ、または拡大ＣＤＲであってよい。

【０１３３】

改善された結合を持つ候補を配列決定し、それによって、改善された親和性（「改善された」置換とも呼ばれる）をもたらすＣＤＲ置換突然変異体を同定する。結合する候補も配列決定し、それによって、結合を保持するＣＤＲ置換を同定することができる。

【０１３４】

複数回のスクリーニングを行うことができる。例えば、改善された結合を持つ候補（各々は、１個または複数のＣＤＲの１個または複数の位置にアミノ酸置換を含む）は、各々の改善されたＣＤＲ位置（すなわち、置換突然変異体が改善された結合を示したＣＤＲ中のアミノ酸位置）に、少なくとも、元のアミノ酸および置換されたアミノ酸を含有する第２のライブラリーを設計するのにも有用である。このライブラリーの調製、およびスクリーニングまたは選択については、以下でさらに議論される。

【０１３５】

ライブラリースキャニング突然変異誘発は、改善された結合、同じ結合、低下した結合を持つか、または結合しないクローンの頻度が、抗体－抗原複合体の安定性についての各アミノ酸位置の重要性に関する情報も提供する限りにおいて、ＣＤＲを特徴付けるための手段も提供する。例えば、ＣＤＲのある位置が、２０個すべてのアミノ酸に変えられた場合に結合を保持する場合、その位置は、抗原結合にとって必要でなさそうな位置と見なされる。逆に、ＣＤＲのある位置が、わずかな比率の置換のみで結合を保持する場合、その位置は、ＣＤＲ機能に重要である位置と見なされる。したがって、ライブラリースキャニング突然変異誘発法は、多くの異なるアミノ酸（２０個すべてのアミノ酸を含む）に変えることができるＣＤＲ中の位置、および変えることができないか、またはおよび少数のアミノ酸のみに変えることができるＣＤＲ中の位置に関する情報を生む。

【０１３６】

改善された親和性を持つ候補は、改善されたアミノ酸、その位置の元のアミノ酸が含まれ、望ましいライブラリーの複雑性に応じて、その位置に追加の置換がさらに含まれていてよい、または望ましいスクリーニングまたは選択方法を用いて可能である第２のライブラリーで組み合わせることができる。さらに、望ましい場合、隣接アミノ酸位置を、少なくとも２個以上のアミノ酸に無作為化することができる。隣接アミノ酸の無作為化は、突然変異体ＣＤＲにおける追加のコンホメーション柔軟性を可能にすることができ、これは、多数の改善突然変異の導入を可能または容易にすることができる。このライブラリーは、第１回目のスクリーニングにおいて改善された親和性を示さなかった位置における置換

も含むことができる。

【０１３７】

第２のライブラリーは、ＢＩＡｃｏｒｅ表面プラズモン共鳴分析を用いるスクリーニング、ならびにファージディスプレー、酵母ディスプレー、およびリボソームディスプレーを含む、選択に関して当技術分野において知られている任意の方法を用いる選択を含む、当技術分野において知られている任意の方法を用い、改善されたおよび／または変化を受けた結合親和性を持つライブラリーメンバーについてスクリーニングまたは選択される。

【０１３８】

本発明は、本発明の抗体（９ＴＬおよび６Ｇなど）またはポリペプチド由来の１個または複数のフラグメントまたは領域を含む融合タンパク質も包含する。一実施形態において、可変軽鎖領域の少なくとも１０個の隣接するアミノ酸、および／または示される可変重鎖領域の少なくとも１０個のアミノ酸を含む融合ポリペプチドが提供される。他の実施形態において、可変軽鎖領域の少なくとも約１０個、少なくとも約１５個、少なくとも約２０個、少なくとも約２５個、または少なくとも約３０個の隣接するアミノ酸、および／または可変重鎖領域の少なくとも約１０個、少なくとも約１５個、少なくとも約２０個、少なくとも約２５個、または少なくとも約３０個の隣接するアミノ酸を含む融合ポリペプチドが提供される。別の実施形態において、融合ポリペプチドは、９ＴＬまたは６Ｇの軽鎖可変領域および／または重鎖可変領域を含む。別の実施形態において、融合ポリペプチドは、９ＴＬまたは６Ｇの１個または複数のＣＤＲを含む。さらに他の実施形態において、融合ポリペプチドは、抗体９ＴＬまたは６ＧのＣＤＲ　Ｈ３および／またはＣＤＲ　Ｌ３を含む。本発明の目的で、９ＴＬまたは６Ｇ融合タンパク質は、それぞれ１個または複数の９ＴＬまたは６Ｇ抗体および天然分子では接続していない別のアミノ酸配列、例えば、異種配列または別の領域由来の相同配列を含有する。例示的異種配列には、ＦＬＡＧタグまたは６Ｈｉｓタグなどの「タグ」が含まれるが、これらに限定されるものではない。タグは、当技術分野においてよく知られている。

【０１３９】

融合ポリペプチドは、当技術分野において知られている方法により、例えば合成的または組み換え的に作製することができる。通常、本発明の融合タンパク質は、本明細書に記載されている組み換え法を用い、それらをコードするポリヌクレオチドを発現する調製することにより製造されるが、例えば、化学合成を含む当技術分野において知られている他の手段によっても調製することができる。

【０１４０】

本発明は、固体支持体とのカップリングを容易にする試剤（ビオチンまたはアビジンなど）とコンジュゲートされた（例えば、連結された）抗体またはポリペプチドを含む組成物も提供する。話を簡単にするために、一般的に、これらの方法が、本明細書に記載されているＡβ結合性実施形態のうちのいずれかに当てはまるという理解の下で抗体に言及する。一般的に、コンジュゲーションは、本明細書に記載されているようなこれらの成分と連結することを指す。連結（一般的に、少なくとも投与のために近接会合でこれらの成分を固定している）は、任意の数の方法で行うことができる。例えば、試剤と抗体の間の直接反応は、各々が他方と反応することができる置換基を有している場合に可能である。例えば、一方の上のアミノまたはスルフヒドリル基などの求核基は、他方の上の無水物または酸ハロゲン化物などのカルボニル含有基と、または良好な脱離基（例えば、ハロゲン化物）を含むアルキル基と反応することができる。

【０１４１】

本発明の抗体またはポリペプチドは、蛍光分子、放射性分子などの標識剤（あるいは、「標識」と呼ばれる）または当技術分野において知られているその他の標識と連結することができる。一般的にシグナルを（直接的または間接的のどちらか）提供する標識は、当技術分野において知られている。

【０１４２】

本発明は、抗体９ＴＬまたは６Ｇ、および、本開示が明らかにするように、本明細書に

記載されている抗体および／またはポリペプチドのうちのいずれか、またはそれらのすべてを含む組成物（医薬組成物を含む）およびキットも提供する。

【０１４３】

エフェクター機能障害を有する抗Ａβペプチド抗体およびポリペプチド

本発明の方法は、β－アミロイド（Ａβ）ペプチドと特異的に結合し、エフェクター機能障害を有する抗体またはポリペプチド（抗体またはポリペプチドを含む医薬組成物を含む）を使用する。抗体およびポリペプチドは、以下の特徴、すなわち、（ａ）対象におけるアミロイドプラークの形成を抑制する、（ｂ）対象の眼におけるアミロイドプラークを低減する、（ｃ）加齢性黄斑変性症（萎縮型と滲出型の双方）、緑内障、糖尿病性網膜症（黄斑浮腫を含む）および他の関連する網膜変性疾患を含むがこれらに限定されない眼科疾患の１個または複数の症状を治療、予防、軽減する、（ｄ）網膜機能の有意な保護または回復を引き起こす、および（ｅ）視力の有意な保存または回復を引き起こすうちのいずれか（１個または複数）をさらに特徴とする。

【０１４４】

本明細書に記載されている抗体およびポリペプチドは、望ましい安全性プロファイルを示すことがあり、例えば、本発明の組成物は、脳脈管系における出血（脳出血）、髄膜脳炎（磁気共鳴スキャンの変化を含む）、脳脊髄液における白血球数の上昇、中枢神経系の炎症のうちのいずれか１個または複数の有意な、もしくは許容できないレベルを引き起こさず、または低下したレベルを有する。

【０１４５】

本明細書で使用する「エフェクター機能障害」（「免疫学的に不活性である」または「部分的に免疫学的に不活性である」と同義的に使用される）を有する抗体またはポリペプチドは、いかなるエフェクター機能も有しない、またはエフェクター機能の低下した１個または複数の活性を有する（改変されていない、すなわち天然に存在する定常領域を有する抗体またはポリペプチドと比較して）、例えば、以下の、すなわち、ａ）補体媒介性溶解を誘発すること、ｂ）抗体依存性細胞媒介性細胞障害（ＡＤＣＣ）を刺激すること、およびｃ）ミクログリアを活性化することのうちのいずれか１個または複数で活性を有しないか、または低下した活性を有する抗体またはポリペプチドを指す。エフェクター機能活性は、約１０％、２０％、３０％、４０％、５０％、６０％、７０％、８０％、９０％、９５％、９９％、および１００％のうちのいずれか低下させることができる。一部の実施形態において、抗体は、標的の有意な補体依存性溶解、または細胞媒介性破壊を誘発せずにβ－アミロイドペプチドと結合する。例えば、定常領域上のＦｃ受容体結合部位を改変または突然変異させ、ＦｃγＲＩ、ＦｃγＲＩＩ、および／またはＦｃγＲＩＩＩなどの特定のＦｃ受容体に対する結合親和性を除去または低減することができる。話を簡単にするために、一般的に、実施形態が、ポリペプチドにも当てはまるという理解の下で抗体に言及する。ＥＵナンバリングシステム（Ｋａｂａｔ他、Ｓｅｑｕｅｎｃｅｓ ｏｆ Ｐｒｏｔｅｉｎｓ ｏｆ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｉｃａｌ Ｉｎｔｅｒｅｓｔ；第５版 Ｐｕｂｌｉｃ Ｈｅａｌｔｈ Ｓｅｒｖｉｃｅ、Ｎａｔｉｏｎａｌ Ｉｎｓｔｉｔｕｔｅｓ ｏｆ Ｈｅａｌｔｈ、Ｂｅｔｈｅｓｄａ、Ｍｄ．、１９９１）を使用し、定常領域（例えば、ＩｇＧ抗体の）の１個または複数のどのアミノ酸が変異または突然変異したかを示す。ナンバリングは、類似の変化が、抗体および種のタイプを横断して行われることがあるという理解の下で、特定のタイプの抗体（例えば、ＩｇＧ１）または種（例えば、ヒト）について使用することができる。

【０１４６】

一部の実施形態において、Ａβペプチドと特異的に結合する抗体は、エフェクター機能障害を有する重鎖定常領域を含む。重鎖定常領域は、天然に存在する配列を有することができ、または変異体である。一部の実施形態において、天然に存在する重鎖定常領域のアミノ酸配列は、例えば、アミノ酸の置換、挿入および／または欠失により突然変異し、それによって定常領域のエフェクター機能が損なわれる。一部の実施形態において、重鎖定常領域のＦｃ領域のＮ－グリコシル化部も変化させることができ、例えば、完全または部

分的に除去することができ、それによって、定常領域のエフェクター機能が損なわれる。
【０１４７】
一部の実施形態において、エフェクター機能は、抗ＡβペプチドのＦｃ領域（例えば、ＩｇＧのＣＨ２ドメイン中の）のＮ－グリコシル化部を除去することにより損なわれる。一部の実施形態において、Ｆｃ領域のＮ－グリコシル化部は、定常領域中のグリコシル化部位認識配列の一部であるグリコシル化アミン酸残基または隣接残基を突然変異させることにより除去される。トリペプチド配列アスパラギン－Ｘ－セリン（Ｎ－Ｘ－Ｓ）、アスパラギン－Ｘ－スレオニン（Ｎ－Ｘ－Ｔ）およびアスパラギン－Ｘ－システイン（Ｎ－Ｘ－Ｃ）（Ｘは、プロリンを除く任意のアミノ酸である）は、炭水化物部分をＮ－グリコシル化のためのアスパラギン側鎖と酵素的に接続するための認識配列である。定常領域中のトリペプチド配列においてアミノ酸のいずれかを突然変異させることにより、アグリコシル化ＩｇＧが得られる。
【０１４８】
例えば、ヒトＩｇＧ１およびＩｇＧ３のＮ－グリコシル化部位Ｎ２９７を、Ａ、Ｄ、Ｑ、Ｋ、またはＨに突然変異させることができる。Ｔａｏ他、Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ １４３：２５９５～２６０１（１９８９）；およびＪｅｆｆｅｒｉｓ他、Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｉｃａｌ Ｒｅｖｉｅｗｓ １６３：５９～７６（１９９８）を参照されたい。Ｇｌｎ、Ｈｉｓ、またはＬｙｓでＡｓｎ－２９７が置換されたヒトＩｇＧ１およびＩｇＧ３は、ヒトＦｃγＲＩと結合せず、補体を活性化せず、Ｃ１ｑ結合能力が、ＩｇＧ１については完全に失われ、ＩｇＧ３については劇的に低下することが報告されている。一部の実施形態において、トリペプチド配列中のアミノ酸Ｎは、アミノ酸Ａ、Ｃ、Ｄ、Ｅ、Ｆ、Ｇ、Ｈ、Ｉ、Ｋ、Ｌ、Ｍ、Ｐ、Ｑ、Ｒ、Ｓ、Ｔ、Ｖ、Ｗ、Ｙのうちのいずれか１個に突然変異される。一部の実施形態において、トリペプチド配列中のアミノ酸Ｎは、保存的置換に突然変異される。一部の実施形態において、トリペプチド配列中のアミノ酸Ｘは、プロリンに突然変異される。一部の実施形態において、トリペプチド配列中のアミノ酸Ｓは、Ａ、Ｄ、Ｅ、Ｆ、Ｇ、Ｈ、Ｉ、Ｋ、Ｌ、Ｍ、Ｎ、Ｐ、Ｑ、Ｒ、Ｖ、Ｗ、Ｙに突然変異される。一部の実施形態において、トリペプチド配列中のアミノ酸Ｔは、Ａ、Ｄ、Ｅ、Ｆ、Ｇ、Ｈ、Ｉ、Ｋ、Ｌ、Ｍ、Ｎ、Ｐ、Ｑ、Ｒ、Ｖ、Ｗ、Ｙに突然変異される。一部の実施形態において、トリペプチド配列中のアミノ酸Ｃは、Ａ、Ｄ、Ｅ、Ｆ、Ｇ、Ｈ、Ｉ、Ｋ、Ｌ、Ｍ、Ｎ、Ｐ、Ｑ、Ｒ、Ｖ、Ｗ、Ｙに突然変異される。一部の実施形態において、トリペプチドに続くアミノ酸は、Ｐに突然変異される。一部の実施形態において、定常領域中のＮ－グリコシル化部は、酵素的に除去される（実施例３に記載されているようなＮ－グリコシダーゼＦ、エンドグリコシダーゼＦ１、エンドグリコシダーゼＦ２、エンドグリコシダーゼＦ３、およびエンドグリコシダーゼＨなど）。Ｎ－グリコシル化部を除去することは、Ｎ－グリコシル化部に欠損を有する細胞系で抗体を産生することにより行うこともできる。Ｗｒｉｇｈｔ他、Ｊ Ｉｍｍｕｎｏｌ．１６０（７）：３３９３～４０２（１９９８）。
【０１４９】
一部の実施形態において、定常領域のＮ－グリコシル化部位に接続しているオリゴ糖と相互作用するアミノ酸残基は、ＦｃγＲＩに対する結合親和性を低下させるために突然変異される。例えば、ヒトＩｇＧ３のＦ２４１、Ｖ２６４、Ｄ２６５を突然変異させることができる。Ｌｕｎｄ他、Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ １５７：４９６３～４９６９（１９９６）を参照されたい。
【０１５０】
一部の実施形態において、エフェクター機能は、ＰＣＴ ＷＯ９９／５８５７２およびＡｒｍｏｕｒ他、Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ ４０：５８５～５９３（２００３）；Ｒｅｄｄｙ他、Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ １６４：１９２５～１９３３（２０００）に記載されているように、ヒトＩｇＧの２３３～２３６、２９７、および／または３２７～３３１などの領域を改変することにより損なわれる。ＰＣＴ ＷＯ９９／５８５７２およびＡｒｍｏｕｒ他に記載されている抗体は、標的分子を対象とする結合ドメインの他に、ヒト免疫グロブリン重鎖の定常領域のすべてまたは一部と実質的に相同なア

ミノ酸配列を有するエフェクタードメインを含む。これらの抗体は、標的の有意な補体依存性溶解、または細胞媒介性破壊を誘発することなく、標的分子と結合することができる。一部の実施形態において、エフェクタードメインは、ＦｃγＲＩ、ＦｃγＲＩＩａ、およびＦｃγＲＩＩＩについて低下した親和性を有する。一部の実施形態において、エフェクタードメインは、ＦｃＲｎおよび／またはＦｃγＲＩＩｂと特異的に結合することができる。これらは、通常、２個以上のヒト免疫グロブリン重鎖C_H2ドメインに由来するキメラドメインに基づいている。この方法で改変された抗体は、炎症および従来の抗体療法に対する他の有害反応を避けるために、長期抗体療法で使用するのに特に適している。一部の実施形態において、抗体の重鎖定常領域は、以下の突然変異、すなわち、１）Ａ３２７Ａ３３０Ｐ３３１からＧ３２７Ｓ３３０Ｓ３３１、２）Ｅ２３３Ｌ２３４Ｌ２３５Ｇ２３６からＧ２３６が欠失したＰ２３３Ｖ２３４Ａ２３５、３）Ｅ２３３Ｌ２３４Ｌ２３５からＰ２３３Ｖ２３４Ａ２３５、４）Ｅ２３３Ｌ２３４Ｌ２３５Ｇ２３６Ａ３２７Ａ３３０Ｐ３３１からＧ２３６が欠失したＰ２３３Ｖ２３４Ａ２３５Ｇ３２７Ｓ３３０Ｓ３３１、５）Ｅ２３３Ｌ２３４Ｌ２３５Ａ３２７Ａ３３０Ｐ３３１からＰ２３３Ｖ２３４Ａ２３５Ｇ３２７Ｓ３３０Ｓ３３１、および６）Ｎ２９７からＡ２９７またはＮを除くその他のアミノ酸のうちのいずれかのあるヒト重鎖ＩｇＧ１である。一部の実施形態において、抗体の重鎖定常領域は、以下の突然変異、すなわち、Ａ３３０Ｐ３３１からＳ３３０Ｓ３３１のあるヒト重鎖ＩｇＧ２である。一部の実施形態において、抗体の重鎖定常領域は、以下の突然変異、すなわち、Ｅ２３３Ｆ２３４Ｌ２３５Ｇ２３６からＧ２３６が欠失したＰ２３３Ｖ２３４Ａ２３５、Ｅ２３３Ｆ２３４Ｌ２３５からＰ２３３Ｖ２３４Ａ２３５、およびＳ２２８Ｌ２３５からＰ２２８Ｅ２３５のうちのいずれかのあるヒト重鎖ＩｇＧ４である。

【０１５１】

抗体の定常領域を改変し、補体活性を傷害することもできる。例えば、補体のＣ１成分の結合に続くＩｇＧ抗体の補体活性化は、Ｃ１結合モチーフ（例えば、Ｃ１ｑ結合モチーフ）中の定常領域においてアミノ酸残基を突然変異させることにより減少させることができる。ヒトＩｇＧ１のＤ２７０、Ｋ３２２、Ｐ３２９、Ｐ３３１の各々についてのＡｌａ突然変異は、抗体がＣ１ｑと結合して補体を活性化する能力を著しく低下させることが報告されている。マウスＩｇＧ２ｂの場合、Ｃ１ｑ結合モチーフは、残基Ｅ３１８、Ｋ３２０、およびＫ３２２からなる。Ｉｄｕｓｏｇｉｅ他、Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ　１６４：４１７８～４１８４（２０００）；Ｄｕｎｃａｎ他、Ｎａｔｕｒｅ　３２２：７３８～７４０（１９８８）。

【０１５２】

マウスＩｇＧ２ｂについて同定されたＣ１ｑ結合モチーフＥ３１８、Ｋ３２０、およびＫ３２２は、他の抗体アイソタイプについて共通すると考えられている。Ｄｕｎｃａｎ他、Ｎａｔｕｒｅ　３２２：７３８～７４０（１９８８）。ＩｇＧ２ｂのＣ１ｑ結合活性は、その側鎖上に不適切な官能基を有する残基で、この３個の特定の残基のうちのいずれか１個を置き換えることにより消滅させることができる。Ｃ１ｑ結合を消滅させるためには、イオン性残基をＡｌａのみで置き換える必要はない。Ｃ１ｑ結合を消滅させるためには、３個の残基のうちのいずれか１個の代わりに、Ｇｌｙ、Ｉｌｅ、Ｌｅｕ、もしくはＶａｌなどの他のアルキル置換非イオン性残基、またはＰｈｅ、Ｔｙｒ、Ｔｒｐなどの芳香族非極性残基およびＰｒｏを用いることも可能である。さらに、Ｃ１ｑ結合活性を消滅させるためには、残基３１８ではなく残基３２０および３２２の代わりに、Ｓｅｒ、Ｔｈｒ、Ｃｙｓ、およびＭｅｔなどの極性非イオン性残基を用いることも可能である。

【０１５３】

本発明は、エフェクター機能障害を有し、改変されたヒンジ領域を有する抗体も提供する。そのＦｃ受容体に対するヒトＩｇＧの結合親和性は、ヒンジ領域を改変することにより調節することができる。Ｃａｎｆｉｅｌｄ他、Ｊ．Ｅｘｐ．Ｍｅｄ．１７３：１４８３～１４９１（１９９１）；Ｈｅｚａｒｅｈ他、Ｊ．Ｖｉｒｏｌ．７５：１２１６１～１２１６８（２００１）；Ｒｅｄｐａｔｈ他、Ｈｕｍａｎ　Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ　５９：７

２０～７２７（１９９８）。特定のアミノ酸残基を突然変異または欠失させることができる。改変されたヒンジ領域は、ＣＨ１ドメイン由来の様々な抗体クラスまたはサブクラスの抗体に由来する完全ヒンジ領域を含むことができる。例えば、クラスＩｇＧ抗体の定常領域（ＣＨ１）は、クラスＩｇＧ４抗体のヒンジ領域に接続することができる。代替方法として、新たなヒンジ領域は、天然ヒンジの一部または反復中の各単位が天然ヒンジ領域に由来する反復単位を含むことができる。一部の実施形態において、天然ヒンジ領域は、１個または複数のシステイン残基を、アラニンなどの中性残基に変換することにより、または適当に置かれた残基をシステイン残基に変換することにより変異される。米国特許第５，６７７，４２５号。そのような変異は、当技術分野でよく知られているタンパク質化学および、好ましくは遺伝子操作技法を用い、本明細書に記載されているように行われる。

【０１５４】

Ａβペプチドと特異的に結合し、エフェクター機能障害を有する重鎖定常領域と融合されたポリペプチドも、本明細書に記載されている方法に使用することができる。一部の実施形態において、ポリペプチドは、抗体９ＴＬまたは表３に示すその変異体に由来する配列を含む。一部の実施形態において、ポリペプチドは、Ａβペプチドと結合する単一ドメイン抗体に由来する。単一ドメイン抗体は、当技術分野において知られている方法を用いて作製することができる。Ｏｍｉｄｆａｒ他、Ｔｕｍｏｕｒ　Ｂｉｏｌ．２５：２９６～３０５（２００４）；Ｈｅｒｒｉｎｇ他、Ｔｒｅｎｄｓ　ｉｎ　Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ　２１：４８４～４８９（２００３）。

【０１５５】

一部の実施形態において、抗体またはポリペプチドは、Ｆ（ａｂ’）$_2$フラグメントではない。一部の実施形態において、抗体またはポリペプチドは、Ｆａｂフラグメントではない。一部の実施形態において、抗体またはポリペプチドは、単鎖抗体ｓｃＦｖではない。一部の実施形態において、抗体またはポリペプチドは、ＰＥＧ化Ｆ（ａｂ’）$_2$フラグメントである。一部の実施形態において、抗体またはポリペプチドは、ＰＥＧ化Ｆａｂフラグメントである。一部の実施形態において、抗体またはポリペプチドは、ＰＥＧ化単鎖抗体ｓｃＦｖである。

【０１５６】

当技術分野において知られているエフェクター機能障害を有する抗体を製造する他の方法も使用することができる。

【０１５７】

改変された定常領域を持つ抗体およびポリペプチドは、１種または複数のアッセイにおいてテストし、出発抗体と比較した生物学的活性におけるエフェクター機能低下のレベルを評価することができる。例えば、変異したＦｃ領域を持つ抗体またはポリペプチドが、補体もしくはＦｃ受容体（例えば、ミクログリア上のＦｃ受容体）、または変異したヒンジ領域と結合する能力は、本明細書に開示されているアッセイならびに任意の当技術分野でよく知られているアッセイを用いて評価することができる。ＰＣＴ　ＷＯ９９／５８５７２；Ａｒｍｏｕｒ他、Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ　４０：５８５～５９３（２００３）；Ｒｅｄｄｙ他、Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ　１６４：１９２５～１９３３（２０００）；Ｓｏｎｇ他、Ｉｎｆｅｃｔｉｏｎ　ａｎｄ　Ｉｍｍｕｎｉｔｙ　７０：５１７７～５１８４（２００２）。

【０１５８】

一部の実施形態において、β－アミロイドペプチドと特異的に結合する抗体は、ポリクローナル抗体である。一部の実施形態において、抗体は、モノクローナル抗体である。一部の実施形態において、抗体は、ヒト抗体である。一部の実施形態において、抗体は、キメラ抗体である。一部の実施形態において、抗体は、ヒト化抗体である。一部の実施形態において、抗体は、霊長類化抗体である。例えば、Ｙｏｃｕｍ他、Ｊ．Ｐｈｅｕｍａｔｏｌ．２５：１２５７～６２（１９９８）；Ｂｕｇｅｌｓｋｉ他、Ｈｕｍａｎ　＆　Ｅｘｐｅｒｉｍｅｎｔａｌ　Ｔｏｘｉｃｏｌｏｙ　１９：２３０～２４３（２０００）を参照さ

れたい。一部の実施形態において、抗体は、抗体がヒト免疫系を活性化しないように、突然変異により脱免疫化される。例えば、Ｎａｎｕｓ他、Ｊ．Ｕｒｏｌｏｇｙ　１７０：Ｓ８４～Ｓ８９（２００３）を参照されたい。

【０１５９】

本明細書で使用するＡβペプチドには、アミロイド前駆体タンパク質の酵素的切断産物の任意のフラグメントが含まれる。例えば、Ａβペプチドには、$Aβ_{1～40}$、$Aβ_{1～42}$、または$Aβ_{1～43}$の任意のフラグメント、および$Aβ_{1～40}$、$Aβ_{1～42}$、または$Aβ_{1～43}$のＮ末端またはＣ末端にて様々な数のアミノ酸について切断されたペプチドが含まれる。本明細書で使用するアミノ酸ナンバリングは、Ａβ１～４３（配列番号１７）のナンバリングに基づく。

【０１６０】

一部の実施形態において、抗体またはポリペプチドは、Ａβペプチドの残基１～１６内のエピトープと特異的に結合する。一部の実施形態において、抗体またはポリペプチドは、Ａβペプチドの残基１６～２８内のエピトープと特異的に結合する。一部の実施形態において、抗体またはポリペプチドは、$Aβ_{1～40}$ペプチドの残基２８～４０内のエピトープと特異的に結合する。一部の実施形態において、抗体またはポリペプチドは、$Aβ_{1～42}$ペプチドの残基２８～４２内のエピトープと特異的に結合する。一部の実施形態において、抗体またはポリペプチドは、$Aβ_{1～43}$ペプチドの残基２８～４３内のエピトープと特異的に結合する。一部の実施形態において、抗体またはポリペプチドは、完全長アミロイド前駆体タンパク質（ＡＰＰ）と結合することなくＡβペプチドと特異的に結合する。一部の実施形態において、抗体またはポリペプチドは、可溶形態と結合することなくＡβの凝集形態と特異的に結合する。一部の実施形態において、抗体またはポリペプチドは、凝集形態と結合することなくＡβの可溶形態と特異的に結合する。一部の実施形態において、抗体またはポリペプチドは、Ａβの凝集形態と可溶形態の双方と特異的に結合する。Ａβの様々な凝集形態と結合する抗体、例えば、アミロイドβ由来拡散性リガンド（ＡＤＤＬ）と結合する抗体、アミロイド線維および／または沈着と結合する抗体は、当技術分野において知られている。ＷＯ０３／１０４４３７；米国公開第２００３／０１４７８８７号；米国公開第２００４／０２１９１４６号。

【０１６１】

一部の実施形態において、抗体またはポリペプチドは、３Ｄ６免疫グロブリン軽鎖（米国公開第２００３／０１６５４９６号、または第２００４／００８７７７７号における配列番号２）由来の１、２、または３個のＣＤＲ、および／または３Ｄ６免疫グロブリン重鎖（米国公開第２００３／０１６５４９６号、または第２００４／００８７７７７号における配列番号４）由来の１、２、または３個のＣＤＲを含む。一部の実施形態において、抗体またはポリペプチドは、米国公開第２００３／０１６５４９６号において配列番号８に示されるような可変重鎖領域および米国公開第２００３／０１６５４９６号において配列番号５に示されるような可変軽鎖領域を含む。一部の実施形態において、抗体またはポリペプチドは、米国公開第２００３／０１６５４９６号において配列番号１２に示されるような可変重鎖領域および米国公開第２００３／０１６５４９６号において配列番号１１に示されるような可変軽鎖領域を含む。一部の実施形態において、抗体またはポリペプチドは、１０Ｄ５免疫グロブリン軽鎖（米国公開第２００３／０１６５４９６号、または第２００４／００８７７７７号における配列番号１４）由来の１、２、または３個のＣＤＲ、および／または１０Ｄ５免疫グロブリン重鎖（米国公開第２００３／０１６５４９６号、または第２００４／００８７７７７号における配列番号１６）由来の１、２、または３個のＣＤＲを含む。

【０１６２】

一部の実施形態において、抗体またはポリペプチドは、$Aβ_{1～40}$の残基３３～４０内のエピトープと特異的に結合する。一部の実施形態において、抗体またはポリペプチドは、アミノ酸３５～４０が含まれる$Aβ_{1～40}$上のエピトープと特異的に結合する。一部の実施形態において、抗体またはポリペプチドは、アミノ酸３６～４０が含まれるＡβ

$_{1\sim40}$上のエピトープと特異的に結合する。一部の実施形態において、抗体またはポリペプチドは、アミノ酸３９および／または４０が含まれるＡβ$_{1\sim40}$上のエピトープと特異的に結合する。一部の実施形態において、抗体またはポリペプチドは、Ａβ$_{1\sim40}$と特異的に結合するが、Ａβ$_{1\sim42}$および／またはＡβ$_{1\sim43}$とは特異的に結合しない。一部の実施形態において、抗体またはポリペプチドは、抗体９ＴＬまたは本明細書に記載されている９ＴＬに由来する抗体もしくはポリペプチドである。一部の実施形態において、抗体またはポリペプチドは、抗体９ＴＬおよび／または９ＴＬに由来する抗体もしくはポリペプチドがＡβ$_{1\sim40}$と結合するのを競合的に阻害する。一部の実施形態において、抗体は、ＰＣＴ　ＷＯ２００４／０３２８６８に記載されている抗体２２８６ではない。他の実施形態において、抗体またはポリペプチドは、抗体６Ｇまたは本明細書に記載されている６Ｇに由来する抗体もしくはポリペプチドである。一部の実施形態において、抗体またはポリペプチドは、抗体６Ｇおよび／または６Ｇに由来する抗体もしくはポリペプチドがＡβ$_{1\sim40}$およびＡβ$_{1\sim42}$と結合するのを競合的に阻害する。一部の実施形態において、抗体は、米国２００４／０１４６５１２およびＷＯ０４／０３２８６８に記載されている抗体２２９４ではない。ＷＯ２００６１１８９５９に記載されているように、抗体２２９４は、抗体６Ｇに極めて類似しているエピトープと結合する。

【０１６３】

抗体およびポリペプチドを製造する方法は、当技術分野において知られており、本明細書に記載されている。

【０１６４】

競合アッセイを用い、２種の抗体が、同一の、または立体的に重なったエピトープを認識することにより同じエピトープと結合するのか、または一方の抗体が、もう一方の抗体が抗原に結合するのを競合的に阻害するのか否かを決定することができる。これらのアッセイは、当技術分野において知られている。通常、抗原をマルチウェルプレート上に固定化し、非標識抗体が標識抗体の結合をブロックする能力を測定する。そのような競合アッセイのための一般的標識は、放射性標識または酵素標識である。

【０１６５】

ポリヌクレオチド、ベクターおよび宿主細胞

本発明は、本発明の抗体およびポリペプチド（図１および８に示す軽鎖および重鎖可変領域のポリペプチド配列を含む抗体を含む）をコードする単離ポリヌクレオチド、ならびにポリヌクレオチドを含むベクターおよび宿主細胞も提供する。

【０１６６】

したがって、本発明は、以下の、すなわち、（ａ）抗体９ＴＬもしくは６Ｇまたは表３および表８に示すそれらの変異体、（ｂ）抗体９ＴＬもしくは６Ｇまたは表３および表８に示すそれらの変異体のフラグメントもしくは領域、（ｃ）抗体９ＴＬもしくは６Ｇまたは表３および表８に示すそれらの変異体の軽鎖、（ｄ）抗体９ＴＬもしくは６Ｇまたは表３および表８に示すそれらの変異体の重鎖、（ｅ）抗体９ＴＬもしくは６Ｇまたは表３および表８に示すそれらの変異体の軽鎖および／または重鎖由来の１個または複数の可変領域、（ｆ）抗体９ＴＬもしくは６Ｇまたは表３および表８に示すそれらの変異体の１個または複数のＣＤＲ（１、２、３、４、５または６個のＣＤＲ）、（ｇ）抗体９ＴＬまたは６Ｇの重鎖由来のＣＤＲ　Ｈ３、（ｈ）抗体９ＴＬもしくは６Ｇまたは表３および表８に示すそれらの変異体の軽鎖由来のＣＤＲ　Ｌ３、（ｉ）抗体９ＴＬもしくは６Ｇまたは表３および表８に示すそれらの変異体の軽鎖由来の３個のＣＤＲ、（ｊ）抗体９ＴＬもしくは６Ｇまたは表３および表８に示すそれらの変異体の重鎖由来の３個のＣＤＲ、（ｋ）抗体６Ｇまたは表３および表８に示すその変異体の軽鎖由来の３個のＣＤＲおよび重鎖由来の３個のＣＤＲ、および（ｌ）（ｂ）から（ｋ）のうちのいずれか１個を含む抗体のうちのいずれかをコードするポリヌクレオチドを含むポリヌクレオチド（または、医薬組成物を含む組成物）を提供する。一部の実施形態において、ポリヌクレオチドは、配列番号９、配列番号１０、配列番号３４、および配列番号３５に示すポリヌクレオチドのどちらか、または双方を含む。

【０１６７】
別の態様において、本発明は、エフェクター機能障害を有する抗体およびポリペプチドなどの、本明細書に記載されている抗体（抗体フラグメントを含む）およびポリペプチドのうちのいずれかをコードするポリヌクレオチドを提供する。ポリヌクレオチドは、当技術分野において知られている手順によって製造することができる。
【０１６８】
別の態様において、本発明は、本発明のポリヌクレオチドのうちのいずれかを含む組成物（医薬組成物など）を提供する。一部の実施形態において、組成物は、本明細書に記載されているような９ＴＬ抗体をコードするポリヌクレオチドを含む発現ベクターを含む。他の実施形態において、組成物は、本明細書に記載されている抗体またはポリペプチドのうちのいずれかをコードするポリヌクレオチドを含む発現ベクターを含む。さらに他の実施形態において、組成物は、配列番号９および配列番号１０に示すポリヌクレオチドのどちらか、または双方を含む。
【０１６９】
発現ベクター、およびポリヌクレオチド組成物の投与については、本明細書でさらに記載される。
【０１７０】
別の態様において、本発明は、本明細書に記載されているポリヌクレオチドのうちのいずれかを製造する方法を提供する。
【０１７１】
任意のそのような配列に対して相補的なポリヌクレオチドも、本発明に包含される。ポリヌクレオチドは、一本鎖（コーディングまたはアンチセンス）または二本鎖であってよく、ＤＮＡ（ゲノム、ｃＤＮＡまたは合成の）またはＲＮＡ分子であってよい。ＲＮＡ分子には、イントロンを含有し、１対１でＤＮＡ分子と対応するＨｎＲＮＡ分子、およびイントロンを含有しないｍＲＮＡ分子が含まれる。追加のコーディングまたは非コーディング配列は、本発明のポリヌクレオチド内に存在することはあるが、必要ではなく、ポリヌクレオチドは、他の分子および／または支持体材料と連結していることはあるが、必要ではない。
【０１７２】
ポリヌクレオチドは、天然配列（すなわち、抗体またはその一部をコードする内在性配列）を含むことができ、またはそのような配列の変異体を含むことができる。ポリヌクレオチド変異体は、コードされるポリペプチドの免疫反応性が、天然の免疫反応性分子に比べて減少しないような１個または複数の置換、付加、欠失および／または挿入を含有する。一般的に、コードされるポリペプチドの免疫反応性に対する影響は、本明細書に記載されているように評価することができる。変異体は、天然抗体またはその一部をコードするポリヌクレオチド配列と少なくとも約７０％の同一性、より好ましくは少なくとも約８０％の同一性、最も好ましくは少なくとも約９０％の同一性を示すことが好ましい。
【０１７３】
２種のポリヌクレオチドまたはポリペプチド配列は、２種の配列中のヌクレオチドまたはアミノ酸の配列が、以下に記載されているような最大対応に対してアラインメントされた時に同じである場合、「同一」であると言われる。２種の配列間の比較は、通常、比較ウインドウ（ｃｏｍｐａｒｉｓｏｎ　ｗｉｎｄｏｗ）全体で配列を比較し、配列類似性の局所領域を同定および比較することによって行われる。本明細書で使用する「比較ウインドウ」は、少なくとも約２０、通常は３０～約７５、４０～約５０の隣接する位置のセグメントを指し、ある配列は、２種の配列を最適にアラインメントした後で、同数の隣接する位置の参照配列と比較することができる。
【０１７４】
比較のための配列の最適アラインメントは、デフォルトパラメーターを用い、バイオインフォマティクスソフトウェアのＬａｓｅｒｇｅｎｅパッケージソフト（ｓｕｉｔｅ）（ＤＮＡＳＴＡＲ，Ｉｎｃ．、Ｍａｄｉｓｏｎ、ＷＩ）中のＭｅｇａｌｉｇｎプログラムを

用いて行うことができる。このプログラムは、以下の参考文献、すなわち、Ｄａｙｈｏｆｆ，Ｍ．Ｏ．（編）Ａｔｌａｓ ｏｆ Ｐｒｏｔｅｉｎ Ｓｅｑｕｅｎｃｅ ａｎｄ Ｓｔｒｕｃｔｕｒｅ、Ｎａｔｉｏｎａｌ Ｂｉｏｍｅｄｉｃａｌ Ｒｅｓｅａｒｃｈ Ｆｏｕｎｄａｔｉｏｎ、Ｗａｓｈｉｎｇｔｏｎ ＤＣ 第５巻、Ｓｕｐｐｌ．３、３４５～３５８ページ中のＤａｙｈｏｆｆ，Ｍ．Ｏ．（１９７８）Ａ ｍｏｄｅｌ ｏｆ ｅｖｏｌｕｔｉｏｎａｒｙ ｃｈａｎｇｅ ｉｎ ｐｒｏｔｅｉｎｅｓ－Ｍａｔｒｉｃｅｓ ｆｏｒ ｄｅｔｅｃｔｉｎｇ ｄｉｓｔａｎｔ ｒｅｌａｔｉｏｎｓｈｉｐｓ；Ｈｅｉｎ Ｊ．、１９９０、Ｕｎｉｆｉｅｄ Ａｐｐｒｏａｃｈ ｔｏ Ａｌｉｇｎｍｅｎｔ ａｎｄ Ｐｈｙｌｏｇｅｎｅｓ ６２６～６４５ページ Ｍｅｔｈｏｄｓ ｉｎ Ｅｎｚｙｍｏｌｏｇｙ 第１８３巻、Ａｃａｄｅｍｉｃ Ｐｒｅｓｓ，Ｉｎｃ．、Ｓａｎ Ｄｉｅｇｏ、ＣＡ；Ｈｉｇｇｉｎｓ，Ｄ．Ｇ．およびＳｈａｒｐ，Ｐ．Ｍ．、１９８９、ＣＡＢＩＯＳ ５：１５１～１５３；Ｍｙｅｒｓ，Ｅ．Ｗ．およびＭｕｌｌｅｒ Ｗ．、１９８８、ＣＡＢＩＯＳ ４：１１～１７；Ｒｏｂｉｎｓｏｎ，Ｅ．Ｄ．、１９７１、Ｃｏｍｂ．Ｔｈｅｏｒ．１１：１０５；Ｓａｎｔｏｕ，Ｎ，、Ｎｅｓ，Ｍ．、１９８７、Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．Ｅｖｏｌ．４：４０６～４２５；Ｓｎｅａｔｈ，Ｐ．Ｈ．Ａ．およびＳｏｋａｌ，Ｒ．Ｒ．、１９７３、Ｎｕｍｅｒｉｃａｌ Ｔａｘｏｎｏｍｙ ｔｈｅ Ｐｒｉｎｃｉｐｌｅｓ ａｎｄ Ｐｒａｃｔｉｃｅ ｏｆ Ｎｕｍｅｒｉｃａｌ Ｔａｘｏｎｏｍｙ、Ｆｒｅｅｍａｎ Ｐｒｅｓｓ、Ｓａｎ Ｆｒａｎｃｉｓｃｏ、ＣＡ；Ｗｉｌｂｕｒ，Ｗ．Ｊ．およびＬｉｐｍａｎ，Ｄ．Ｊ．、１９８３、Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ８０：７２６～７３０に記載されているいくつかのアラインメントスキームを実施する。

【０１７５】

「配列同一性の百分率」は、少なくとも２０個の位置の比較ウインドウ全体で２種の最適にアラインメントされた配列を比較することにより決定され、比較ウインドウ内のポリヌクレオチドまたはポリペプチド配列の部分は、２種の配列の最適アラインメントのための参照配列（付加または欠失を含まない）と比較して、２０％以下、通常は５～１５％、または１０～１２％の付加または欠失（すなわちギャップ）を含むことがある。この百分率は、同一の核酸塩基またはアミノ酸残基が両配列中に存在する位置の数を決定してマッチした位置の数を出し、マッチした位置の数を、参照配列中の位置の総数（すなわち、ウインドウサイズ）で除し、その結果に１００を乗じて配列同一性の百分率を出すことにより算出される。

【０１７６】

または代替方法として、変異体は、天然遺伝子、またはそれらの一部もしくは相補体と実質的に相同であってもよい。そのようなポリヌクレオチド変異体は、中程度に厳密な条件の下で、天然抗体をコードする天然に存在するＤＮＡ配列（または、相補配列）とハイブリダイズすることができる。

【０１７７】

適当な「中程度に厳密な条件」には、５×ＳＳＣ、０．５％ ＳＤＳ、１．０ｍＭ ＥＤＴＡ（ｐＨ８．０）中で予洗すること、５０℃～６５℃、５×ＳＳＣにて一夜ハイブリダイズすること、続いて０．１％ＳＤＳを含有する２×、０．５×および０．２×ＳＳＣの各々で６５℃にて２０分間、２回洗浄することが含まれる。

【０１７８】

本明細書で使用する「高度に厳密な条件」または「高厳密性条件」は、（１）洗浄のために、低イオン強度で高温の、例えば、０．０１５Ｍ塩化ナトリウム／０．００１５Ｍクエン酸ナトリウム／０．１％ドデシル硫酸ナトリウムを５０℃にて用いる、（２）ハイブリダイゼーション中に、ホルムアミド、例えば、０．１％ウシ血清アルブミンを添加した５０％（ｖ／ｖ）ホルムアミド／０．１％ Ｆｉｃｏｌｌ／０．１％ポリビニルピロリドン／７５０ｍＭ塩化ナトリウム、７５ｍＭクエン酸ナトリウムを添加したｐＨ６．５の５０ｍＭリン酸ナトリウム緩衝液などの変性剤を４２℃にて用いる、または（３）０．２×ＳＳＣ（塩化ナトリウム／クエン酸ナトリウム）および５５℃の５０％ホルムアミド中の

４２℃における洗浄と、続く５５℃におけるＥＤＴＡを含有する０．１×ＳＳＣからなる高厳密性洗浄と共に、５０％ホルムアミド、５×ＳＳＣ（０．７５Ｍ　ＮａＣｌ、０．０７５Ｍクエン酸ナトリウム）、５０ｍＭリン酸ナトリウム（ｐＨ６．８）、０．１％ピロリン酸ナトリウム、５×デンハート溶液、超音波処理したサケ精子ＤＮＡ（５０μｇ／ｍｌ）、０．１％ＳＤＳ、および１０％デキストラン硫酸を４２℃にて用いる条件である。当業者は、必要に応じて温度、イオン強度などを調整し、プローブ長などの要素を適応させる方法を知っているであろう。

【０１７９】

当業者には当然のことながら、遺伝コードの縮重の結果として、本明細書に記載されているようなポリペプチドをコードする多くのヌクレオチド配列が存在する。これらのポリヌクレオチドの一部は、任意の天然遺伝子のヌクレオチド配列と最低限の相同性を有する。しかしながら、コドン使用頻度の差によって異なるポリヌクレオチドは、本発明によって具体的に企図されている。さらに、本明細書で提供されるポリヌクレオチド配列を含む遺伝子の対立遺伝子は、本発明の範囲内にある。対立遺伝子は、ヌクレオチドの欠失、付加および／または置換などの１個または複数の突然変異の結果として変異された内在性遺伝子である。得られるｍＲＮＡおよびタンパク質は、変化した構造または機能を有することがあるが、その必要はない。対立遺伝子は、標準的技法（ハイブリダイゼーション、増幅および／またはデータベース配列比較など）を用いて同定することができる。

【０１８０】

本発明のポリヌクレオチドは、化学合成、組み換え法、またはＰＣＲを用いて得ることができる。化学的ポリヌクレオチド合成の方法は、当技術分野においてよく知られており、本明細書で詳細に記載する必要はない。当業者は、本明細書で提供される配列および市販のＤＮＡ合成装置を用いて望ましいＤＮＡ配列を製造することができる。

【０１８１】

ＲＮＡは、適切なベクター中で単離ＤＮＡを用い、適当な宿主細胞にそれを挿入することにより得ることができる。細胞が複製し、ＤＮＡがＲＮＡに転写されたら、例えば、Ｓａｍｂｒｏｏｋ他（１９８９）に記載されているように、当業者によく知られている方法を用いてＲＮＡを単離することができる。

【０１８２】

適当なクローニングベクターは、標準的な技法に従って構築することができ、または当技術分野において使用可能な多数のクローニングベクターから選択することができる。

【０１８３】

一般的に、発現ベクターは、本発明によるポリヌクレオチドを含有する複製可能なポリヌクレオチド構築物である。発現ベクターは、エピソーム、または染色体ＤＮＡの不可欠な部分のどちらかとして、宿主細胞において複製可能でなければならないことが意味される。適当な発現ベクターには、プラスミド、アデノウイルス、アデノ随伴ウイルス、レトロウイルスを含むウイルスベクター、コスミド、およびＰＣＴ公開ＷＯ８７／０４４６２に開示されている１種または複数の発現ベクターが含まれるが、これらに限定されるものではない。

【０１８４】

関心のあるポリヌクレオチドを含有するベクターは、エレクトロポレーション、塩化カルシウム、塩化ルビジウム、リン酸カルシウム、ＤＥＡＥ－デキストラン、または他の物質を用いる形質移入、マイクロプロジェクタイルボンバードメント、リポフェクション、および感染（例えば、ベクターが、ワクシニアウイルスなどの感染因子である場合）を含む多くの適切な手段のうちのいずれかにより宿主細胞中に導入することができる。

【０１８５】

本発明は、本明細書に記載されているポリヌクレオチドのうちのいずれかを含む宿主細胞も提供する。関心のある抗体、ポリペプチドまたはタンパク質をコードする遺伝子を単離する目的で、異種ＤＮＡを過剰発現することができる任意の宿主細胞を使用することができる。哺乳類宿主細胞の非限定的な例には、ＣＯＳ、ＨｅＬａ、およびＣＨＯ細胞が含

まれるが、これらに限定されるものではない。ＰＣＴ公開ＷＯ８７／０４４６２も参照されたい。適当な非哺乳類宿主細胞には、原核生物（大腸菌（Ｅ．ｃｏｌｉ）および枯草菌（Ｂ．ｓｕｂｔｉｌｌｉｓ）など）および酵母（サッカロミセスセレビサエ（Ｓ．ｃｅｒｅｖｉｓａｅ）、シゾサッカロミセスポンベ（Ｓ．ｐｏｍｂｅ）、またはクルイベロミセスラクチス（Ｋ．ｌａｃｔｉｓ）など）が含まれる。宿主細胞は、宿主細胞中で、存在する場合、関心のある対応する内在性の抗体またはタンパク質のレベルに比べて約５倍高い、より好ましくは１０倍高い、より好ましくは２０倍高いレベルでｃＤＮＡを発現することが好ましい。Ａβ$_{1\sim40}$との特異結合についての宿主細胞のスクリーニングは、イムノアッセイまたはＦＡＣＳによって行われる。関心のある抗体またはタンパク質を過剰発現する細胞を同定することができる。

【０１８６】

エフェクター機能障害を有する９ＴＬまたは６Ｇ由来の抗体および抗Ａβ抗体の診断使用

１個または複数のＡβペプチドのＣ末端と結合する抗体９ＴＬまたは６Ｇを用い、眼における標的Ａβの有無を同定または検出することができる。話を簡単にするために、一般的に、これらの方法が、本明細書に記載されているＡβ結合性実施形態（ポリペプチドなど）のうちのいずれかに当てはまるという理解の下で９ＴＬまたは６Ｇ抗体に言及する。一般的に、検出は、生物試料をＡβ$_{1\sim40}$と結合する本明細書に記載されている抗体と接触させ、Ａβ$_{1\sim40}$とＡβ$_{1\sim40}$と特異的に結合する抗体（例えば、９ＴＬ）の間で複合体を形成させるものである。そのような複合体の形成は、ｉｎ ｖｉｔｒｏまたはｉｎ ｖｉｖｏであってよい。本明細書で使用する用語「検出」には、対照を参照する、または対照を参照しない定性的および／または定量的検出（レベルを測定すること）が含まれる。

【０１８７】

ポリペプチドと結合する抗体を用いる、例えば、酵素結合免疫吸着アッセイ（ＥＬＩＳＡ）、ラジオイムノアッセイ（ＲＩＡ）などによるイムノアッセイ、およびコードされるポリペプチドについての機能アッセイ、例えば、結合活性または酵素アッセイを含むがこれらに限定されない、様々な知られている方法のうちのいずれかを検出に使用することができる。一部の実施形態において、抗体は検出可能に標識される。他の実施形態は、当業者に知られており、本明細書に記載されている。

【０１８８】

本発明の抗体およびポリペプチドは、変化した、または異常なＡβまたはβＡＰＰ発現を有する眼の疾患、状態、または障害を検出、診断およびモニターするのに使用することができる。したがって、一部の実施形態において、本発明は、眼における変化した、または異常なＡβ発現を有する疑いのある個体の標本（試料）を本発明の抗体またはポリペプチドと接触させること、およびＡβペプチドのレベルが、対照または比較標本のレベルと異なるか否かを決定することを含む方法を提供する。他の実施形態において、本発明は、個体の標本（試料）を接触させ、Ａβ発現のレベルを決定することを含む方法を提供する。

【０１８９】

診断的用途の場合、抗体は、放射性同位元素、蛍光標識、および様々な酵素基質標識を含むがこれらに限定されない、検出可能な部分で標識することができる。標識を抗体にコンジュゲートする方法は、当技術分野において知られている。本発明の他の実施形態において、本発明の抗体は、標識する必要がなく、その存在は、本発明の抗体と結合する標識抗体を用いて検出することができる。

【０１９０】

本発明の抗体は、競合的結合アッセイ、直接および間接サンドイッチアッセイ、および免疫沈降アッセイなどの任意の知られているアッセイ方法で用いることができる。Ｚｏｌａ、Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ：Ａ Ｍａｎｕａｌ ｏｆ Ｔｅｃｈｎｉｑｕｅｓ、１４７～１５８ページ（ＣＲＣ Ｐｒｅｓｓ，Ｉｎｃ．１９８７）。

【０１９１】
抗体は、ｉｎ　ｖｉｖｏイメージングなどのｉｎ　ｖｉｖｏ診断アッセイにも使用することができる。一般的に、抗体は、関心のある細胞または組織が、免疫シンチオグラフィー（ｉｍｍｕｎｏｓｃｉｎｔｉｏｇｒａｐｈｙ）を用いて局在化することができるように、放射性核種（^{111}Ｉｎ、^{99}Ｔｃ、^{14}Ｃ、^{131}Ｉ、^{125}Ｉ、または^{3}Ｈなど）で標識される。抗体は、当技術分野においてよく知られている技法に従い、病変における染色試薬としても使用することができる。
【０１９２】
エフェクター機能障害を有する抗Ａβ抗体は、網膜関連変性性眼科疾患の危険性がある、またはそれと診断された対象を診断するために網膜機能を測定するため、および任意の治療および疾患ステージの進行を評価するために使用することができる。一部の実施形態において、エフェクター機能障害を有する抗Ａβ抗体は、対象に投与され、血漿中のＡβのレベルが測定され、それによって、血漿Ａβの増加は、対象における脳アミロイド負荷の存在および／またはレベルを明らかにする。これらの方法を用い、治療の有効性および疾患ステージをモニターし、将来の投与および頻度を決定することができる。エフェクター機能障害を有する抗体は、優れた安全性プロファイルを有し、これらの診断的使用に利点を提供することがある。
【０１９３】
治療目的で抗Ａβ抗体を使用する方法
本明細書に記載されている抗体（ポリペプチドを含む）、ポリヌクレオチド、および医薬組成物は、網膜関連変性を特徴とする眼科疾患の発生を治療、予防および阻止するための方法において使用することができる。方法は、対象に有効量の、タンパク質もしくはタンパク質沈着物と特異的に結合する抗体または抗体をコードするポリヌクレオチドを投与することを含み、抗体は、エフェクター機能障害を有する。
【０１９４】
本明細書に記載されている抗体（ポリペプチドを含む）、ポリヌクレオチド、および医薬組成物は、加齢性黄斑変性症、および加齢性黄斑変性症（滲出型と萎縮型の双方）、緑内障、糖尿病性網膜症（糖尿病性黄斑浮腫を含む）、ブルッフ膜における裂傷、近視性変性、眼腫瘍および他の関連する網膜変性疾患などの他の眼科疾患の発生を治療、予防および阻止するための方法で使用することができる。そのような方法は、対象に、抗体、ポリペプチド、もしくはポリヌクレオチド、または医薬組成物を投与することを含む。予防的用途の場合、医薬組成物または医薬品は、眼科疾患を起こしやすいか、さもなければ眼科疾患の危険性がある患者に、危険性を排除または低減する、重症度を軽減する、または疾患の生化学的、組織学的および／または行動的症状、疾患の発生中に現れるその合併症および中間的な病理学的表現型を含む疾患の始まりを遅延するのに十分な量で投与される。治療的用途の場合、組成物または医薬品は、そのような疾患が疑われる、またはそのような疾患にすでに罹患している患者に、疾患の発生におけるその合併症および中間的な病理学的表現型を含む疾患の症状（生化学的、組織学的および／または行動的）を治癒する、または少なくとも部分的に停止するのに十分な量で投与される。
【０１９５】
加齢性黄斑変性症の合併症および中間的な病理学的表現型には、厚いびまん性の網膜色素上皮（ＲＰＥ）下沈着、リップリッチ（ｌｉｐ－ｒｉｃｈ）ドルーゼン様（ｄｒｕｓｅｎ－ｌｉｋｅ）沈着、ブルッフ膜の肥厚、ＲＰＥ萎縮の斑状領域および脈絡膜血管新生が含まれる。
【０１９６】
本発明は、対象において網膜変性および／またはその症状の発生を遅延する方法であって、対象に、有効用量の本明細書に記載されている抗体、ポリペプチド、またはポリヌクレオチドを含む医薬組成物を投与することを含む方法も提供する。
【０１９７】
本発明は、対象において網膜機能を回復または保護する方法であって、対象に、有効投

与量の本明細書に記載されている抗体、ポリペプチド、またはポリヌクレオチドを含む医薬組成物を投与することを含む方法も提供する。

【０１９８】

本発明は、対象の網膜においてアミロイドプラークを減少させ、および／またはＡβ蓄積を低減または遅延する方法であって、対象に、有効投与量の本明細書に記載されている抗体、ポリペプチド、またはポリヌクレオチドを含む医薬組成物を投与することを含む方法も提供する。

【０１９９】

本発明は、対象の網膜においてアミロイドプラークおよび／またはＡβ蓄積を除去または一掃する方法であって、対象に、有効投与量の本明細書に記載されている抗体、ポリペプチド、またはポリヌクレオチドを含む医薬組成物を投与することを含む方法も提供する。一部の実施形態において、アミロイドプラークは、対象の脳内にある。

【０２００】

本発明は、網膜組織においてＡβペプチドを減少させ、網膜組織においてＡβペプチドの蓄積を阻害および／または低減する方法であって、対象に、有効投与量の本明細書に記載されている抗体、ポリペプチド、またはポリヌクレオチドを含む医薬組成物を投与することを含む方法も提供する。Ａβペプチドは、可溶形態、オリゴマー形態、または沈着形態であってよい。Ａβのオリゴマー形態は、２～５０個のＡβポリペプチドからなってよく、完全長１～４０と１～４２ペプチドの混合物および／またはこれらのペプチドの任意の切断型バージョンであってよい。

【０２０１】

本発明は、眼科疾患において網膜変性を改善または逆転する方法であって、対象に、有効用量の本明細書に記載されている抗体、ポリペプチド、またはポリヌクレオチドを含む医薬組成物を投与することを含む方法も提供する。

【０２０２】

本発明は、網膜変性に伴う疾患を治療または予防する方法であって、対象に、有効用量のβ－アミロイドペプチドまたはβ－アミロイドペプチドの凝集形態と特異的に結合する抗体を含む医薬組成物を投与することを含み、抗体が、天然に存在するＦｃ領域由来の変異のあるＦｃ領域を含み、その変異が、エフェクター機能障害をもたらし、それによって抗体の投与が、変異のない抗体の投与よりも脳微小出血をあまり引き起こさない方法も提供する。

【０２０３】

本明細書に記載されている方法（予防または治療を含む）は、単一または複数部位への単一時点または複数時点での単回直接注射によって行うことができる。投与は、複数部位へほぼ同時であってよい。投与回数は、療法の過程全体で決定および調整することができ、望ましい結果を得ることが基準となる。一部の例において、本発明の抗体（ポリペプチドを含む）、ポリヌクレオチド、および医薬組成物の持続性の連続放出製剤が適切であることがある。持続性放出を実現するための様々な製剤および装置は、当技術分野において知られている。

【０２０４】

患者、対象、または個体には、ヒト、ウシ、ウマ、イヌ、ネコ、ブタ、およびヒツジ動物などの哺乳類が含まれる。対象は、ヒトであることが好ましく、疾患に罹患していても罹患していなくてもよく、現在、症状を示していても示していなくてもよい。本方法は、対象患者の危険性についていかなる評価もする必要がなく一般的な集団へ予防的に投与することができる。本方法は、加齢性黄斑変性症の知られている遺伝的危険性を有する個体に有用である。そのような個体には、この疾患を経験した親族を有する個体、および遺伝的または生化学的マーカーの分析によって危険性が判定された個体が含まれる。

【０２０５】

上記の方法で使用することができる医薬組成物には、本明細書に記載されている抗体、ポリペプチド、および／またはポリヌクレオチドのうちのいずれかが含まれる。一部の実

施形態において、抗体は、抗体９ＴＬもしくは６Ｇまたは表３および８に示すそれらの変異体である。一部の実施形態において、抗体は、Ａβペプチドと特異的に結合し、エフェクター機能障害を有する定常領域を含む抗体である。

【０２０６】

投与および用量

抗体は、担体、好ましくは薬学的に許容できる担体中で哺乳類に投与されることが好ましい。適当な担体およびそれらの製剤は、Ｒｅｍｉｎｇｔｏｎ’ｓ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ Ｓｃｉｅｎｃｅｓ、第１８版、Ａ．Ｇｅｎｎａｒｏ編、Ｍａｃｋ Ｐｕｂｌｉｓｈｉｎｇ Ｃｏ．、Ｅａｓｔｏｎ、ＰＡ、１９９０；およびＲｅｍｉｎｇｔｏｎ、Ｔｈｅ Ｓｃｉｅｎｃｅ ａｎｄ Ｐｒａｃｔｉｃｅ ｏｆ Ｐｈａｒｍａｃｙ第２０版、Ｍａｃｋ Ｐｕｂｌｉｓｈｉｎｇ、２０００に記載されている。通常、製剤化には、適切な量の薬学的に許容できる塩を使用し、製剤を等張性にする。担体の例には、食塩水、リンゲル液およびデキストロース溶液が含まれる。溶液のｐＨは、約５～約８であることが好ましく、約７～約７．５であることがより好ましい。他の担体には、抗体を含有する固体疎水性ポリマーの半透性マトリクスなどの持続放出調製物が含まれ、マトリクスは、成型品、例えば、フィルム剤、リポソーム剤または微粒子剤の形態である。当業者には明らかであるが、例えば、投与経路および投与されている抗体の濃度に応じて、特定の担体がより好ましいことがある。

【０２０７】

抗体は、有効な形態での血流への抗体の送達を保証する、注射により（例えば、全身的な、静脈内の、腹腔内の、皮下の、筋肉内の、門脈内の、脳内の、脳室内の、および鼻腔内の）、または注入などの他の方法により投与することができる。抗体は、摘出組織灌流などの摘出灌流技法によって投与し、局所的な治療効果を発揮することができる。さらに、本発明の抗体は、局所的に、または硝子体内注射、網膜下注射または両側性注射などの注射の形態で眼に投与することができる。眼への化合物の投与に関する他の情報は、Ｔｏｌｅｎｔｉｎｏ他、Ｒｅｔｉｎａ ２４（２００４）１３２～１３８；Ｒｅｉｃｈ他、Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ ｖｉｓｉｏｎ ９（２００３）２１０～２１６に見出すことができる。

【０２０８】

抗体を投与するための有効な用量およびスケジュールは、経験的に決定することができ、そのような決定を行うことは、当技術分野の技能の範囲内にある。当業者は、投与しなければならない抗体の用量が、例えば、抗体を受けるはずの哺乳類、投与経路、使用される抗体の特定のタイプおよび哺乳類の投与されている他の薬物に応じて異なることを理解しているであろう。

【０２０９】

抗体の適切な投与量を選択する際のガイダンスは、抗体の治療的使用に関する文献、例えば、Ｈａｎｄｂｏｏｋ ｏｆ Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ、Ｆｅｒｒｏｎｅ他編、Ｎｏｇｅｓ Ｐｕｂｌｉｃａｔｉｏｎｓ、Ｐａｒｋ Ｒｉｄｇｅ、Ｎ．Ｊ．、１９８５、ｃｈ．２２および３０３～３５７ページ；Ｓｍｉｔｈ他、Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ ｉｎ Ｈｕｍａｎ Ｄｉａｇｎｏｓｉｓ ａｎｄ Ｔｈｅｒａｐｙ、Ｈａｂｅｒ他編、Ｒａｖｅｎ Ｐｒｅｓｓ、Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ、１９７７、３６５～３８９ページ中に見出される。単独で使用される抗体の典型的な１日用量は、上述の要素に応じて、１日につき体重１ｋｇ当たり約１μｇから１００ｍｇ以上まで、またはそれ以上の範囲であろう。一般的に、以下の投与量のうちのいずれかを使用することができ、すなわち、体重１ｋｇ当たり少なくとも約５０ｍｇ、体重１ｋｇ当たり少なくとも約１０ｍｇ、体重１ｋｇ当たり少なくとも約３ｍｇ、体重１ｋｇ当たり少なくとも約１ｍｇ、体重１ｋｇ当たり少なくとも約７５０μｇ、体重１ｋｇ当たり少なくとも約５００μｇ、体重１ｋｇ当たり少なくとも約２５０μｇ、体重１ｋｇ当たり少なくとも約１００μｇ、体重１ｋｇ当たり少なくとも約５０μｇ、体重１ｋｇ当たり少なくとも約１０μｇ、体重１ｋｇ当たり少なくとも約１μｇ、またはそれ以上の投与量が投与される。抗体を、治療の開始時には低めの

投与量または少なめの頻度で投与し、一過性の脳のアミロイドアンギオパチー（ＣＡＡ）などの潜在的副作用を避けることができる。

【０２１０】

一部の実施形態において、２種以上の抗体が存在することがある。そのような組成物は、本発明の少なくとも２種、少なくとも３種、少なくとも４種、少なくとも５種の異なる抗体（ポリペプチドを含む）を含有することができる。

【０２１１】

抗体は、有効量の１種または複数の他の治療薬と組み合わせて哺乳類に投与することができる。抗体は、１種または複数の他の治療薬と順次または同時に投与することができる。抗体および治療薬の量は、例えば、どのタイプの薬物が使用されるか、治療されている病的状態、投与のスケジューリングおよび経路によって異なるが、一般的に、各々が個々に使用される場合よりも少ないであろう。

【０２１２】

哺乳類への抗体の投与後、哺乳類の生理学的状態を、当業者によく知られている様々な方法でモニターすることができる。

【０２１３】

投与および用量の上記の原則は、本明細書に記載されているポリペプチドに適応させることができる。

【０２１４】

本明細書に記載されている抗体またはポリペプチドをコードするポリヌクレオチドも、望ましい細胞における抗体またはポリペプチドの送達および発現に使用することができる。発現ベクターを用いて抗体の直接的な発現を導くことは明らかである。発現ベクターは、全身的に、腹腔内に、静脈内に、筋肉内に、皮下に、髄腔内に、脳室内に、経口的に、経腸的に、非経口的に、鼻腔内に、経皮的に、または吸入により投与することができる。例えば、発現ベクターの投与には、注射、経口投与、パーティクルガンもしくはカテーテル投与を含む局所もしくは全身投与、および局所性投与が含まれる。当業者は、ｉｎ ｖｉｖｏで外因性タンパク質の発現を得るための発現ベクターの投与に精通している。例えば、米国特許第６，４３６，９０８号、第６，４１３，９４２号、および第６，３７６，４７１号を参照されたい。

【０２１５】

本発明の抗体をコードするポリヌクレオチドを含む治療用組成物の標的送達も使用することができる。受容体媒介性ＤＮＡ送達技法は、例えば、Ｆｉｎｄｅｉｓ他、Ｔｒｅｎｄｓ Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ．（１９９３）１１：２０２；Ｃｈｉｏｕ他、Ｇｅｎｅ Ｔｈｅｒａｐｅｕｔｉｃｓ：Ｍｅｔｈｏｄｓ Ａｎｄ Ａｐｐｌｉｃａｔｉｏｎｓ Ｏｆ Ｄｉｒｅｃｔ Ｇｅｎｅ Ｔｒａｎｓｆｅｒ（Ｊ．Ａ．Ｗｏｌｆｆ編）（１９９４）；Ｗｕ他、Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．（１９８８）２６３：６２１；Ｗｕ他、Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．（１９９４）２６９：５４２；Ｚｅｎｋｅ他、Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．（ＵＳＡ）（１９９０）８７：３６５５；Ｗｕ他、Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．（１９９１）２６６：３３８に記載されている。ポリヌクレオチドを含有する治療用組成物は、遺伝子療法プロトコルにおける局所投与の場合、ＤＮＡ約１００ｎｇ～約２００ｍｇの範囲で投与される。遺伝子療法プロトコル中は、ＤＮＡ約５００ｎｇ～約５０ｍｇ、約１μｇ～約２ｍｇ、約５μｇ～約５００μｇ、および約２０μｇ～約１００μｇの濃度範囲も使用することができる。本発明の治療用のポリヌクレオチドおよびポリペプチドは、遺伝子送達ビヒクルを用いて送達することができる。遺伝子送達ビヒクルは、ウイルス起源または非ウイルス起源であってよい（一般的には、Ｊｏｌｌｙ、Ｃａｎｃｅｒ Ｇｅｎｅ Ｔｈｅｒａｐｙ（１９９４）１：５１；Ｋｉｍｕｒａ、Ｈｕｍａｎ Ｇｅｎｅ Ｔｈｅｒａｐｙ（１９９４）５：８４５；Ｃｏｎｎｅｌｌｙ、Ｈｕｍａｎ Ｇｅｎｅ Ｔｈｅｒａｐｙ（１９９５）１：１８５；およびＫａｐｌｉｔｔ、Ｎａｔｕｒｅ Ｇｅｎｅｔｉｃｓ（１９９４）６：１４８を参照）。そのようなコーディング配列の発現は、内因性の哺乳類または異種プロモーターを用いて誘発することができる。コーディング配列の発現

は、構成的または調節的のどちらかであってよい。

【０２１６】

望ましい細胞における望ましいポリヌクレオチドの送達および発現のためのウイルスベースのベクターは、当技術分野においてよく知られている。例示的なウイルスベースのビヒクルには、組み換えレトロウイルス（例えば、ＰＣＴ公開ＷＯ９０／０７９３６、ＷＯ９４／０３６２２、ＷＯ９３／２５６９８、ＷＯ９３／２５２３４、ＷＯ９３／１１２３０、ＷＯ９３／１０２１８、ＷＯ９１／０２８０５、米国特許第５，２１９，７４０号、第４，７７７，１２７号、英国特許第２，２００，６５１号、およびＥＰ０３４５２４２を参照）、αウイルスベースのベクター（例えば、シンドビスウイルスベクター、セムリキ森林熱ウイルス（ＡＴＣＣ　ＶＲ－６７；ＡＴＣＣ　ＶＲ－１２４７）、ロスリバーウイルス（ＡＴＣＣ　ＶＲ－３７３；ＡＴＣＣ　ＶＲ－１２４６）、およびベネズエラウマ脳炎ウイルス（ＡＴＣＣ　ＶＲ－９２３；ＡＴＣＣ　ＶＲ－１２５０；ＡＴＣＣ　ＶＲ１２４９；ＡＴＣＣ　ＶＲ－５３２）、およびアデノ随伴ウイルス（ＡＡＶ）ベクター（例えば、ＰＣＴ公開ＷＯ９４／１２６４９、ＷＯ９３／０３７６９、ＷＯ９３／１９１９１、ＷＯ９４／２８９３８、ＷＯ９５／１１９８４およびＷＯ９５／００６５５を参照）が含まれるが、これらに限定されるものではない。

【０２１７】

Ｃｕｒｉｅｌ、Ｈｕｍ．Ｇｅｎｅ　Ｔｈｅｒ．（１９９２）３：１４７に記載されているような死んだアデノウイルスに連結されたＤＮＡの投与も用いることができる。

【０２１８】

死んだアデノウイルス単独に連結された、または連結されていないポリカチオン性濃縮ＤＮＡ（例えば、Ｃｕｒｉｅｌ、Ｈｕｍ．Ｇｅｎｅ　Ｔｈｅｒ．（１９９２）３：１４７を参照）、リガンド連結型ＤＮＡ（例えば、Ｗｕ、Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．（１９８９）２６４：１６９８５を参照）、真核細胞送達ビヒクル細胞（例えば、米国特許第５，８１４，４８２号；ＰＣＴ公開ＷＯ９５／０７９９４、ＷＯ９６／１７０７２、ＷＯ９５／３０７６３、およびＷＯ９７／４２３３８を参照）、および核電荷中和または細胞膜との融合を含むがこれらに限定されない、非ウイルス送達ビヒクルおよび方法も用いることができる。裸のＤＮＡも用いることができる。例示的な裸のＤＮＡの導入方法は、ＰＣＴ公開ＷＯ９０／１１０９２および米国特許第５，５８０，８５９号に記載されている。遺伝子送達ビヒクルの役割を果たすことができるリポソームは、米国特許第５，４２２，１２０号；ＰＣＴ公開ＷＯ９５／１３７９６；ＷＯ９４／２３６９７；ＷＯ９１／１４４４５；およびＥＰ０５２４９６８に記載されている。追加のアプローチは、Ｐｈｉｌｉｐ、Ｍｏｌ．Ｃｅｌｌ　Ｂｉｏｌ．（１９９４）１４：２４１１、およびＷｏｆｆｅｎｄｉｎ、Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．（１９９４）９１：１５８１に記載されている。

【０２１９】

キット

本発明は、加齢性黄斑変性症（滲出型と萎縮型の双方）、緑内障、糖尿病性網膜症（糖尿病性黄斑浮腫を含む）、ブルッフ膜における裂傷、近視性変性、眼腫瘍および他の関連する網膜変性疾患などの、本明細書に記載されている眼科疾患を治療するのに有用な材料を含有する製品およびキットも提供する。製品は、ラベル付きの容器を含む。適当な容器には、例えば、瓶、バイアル、および試験管が含まれる。容器は、ガラスまたはプラスチックなどの様々な材料から製作することができる。容器は、病的な眼の状態を治療するのに、またはＡβもしくはβＡＰＰを検出または精製するのに有効である活性剤を有する組成物を保持する。組成物中の活性剤は、抗体であり、ＡβまたはβＡＰＰに特異的なモノクローナル抗体を含むことが好ましい。一部の実施形態において、活性剤は、抗体９ＴＬもしくは６Ｇおよびそれらに由来する抗体またはポリペプチドを含む。一部の実施形態において、活性剤は、エフェクター機能障害を有する抗Ａβ抗体またはポリペプチドを含む。一部の実施形態において、抗Ａβ抗体またはポリペプチドは、重鎖定常領域を含み、定常領域は、エフェクター機能障害を有する。容器上のラベルは、組成物が、ＡＭＤなどの

病的な眼の状態を治療するのに使用されることを示し、上記に記載されている使用などのｉｎ　ｖｉｖｏ使用またはｉｎ　ｖｉｔｒｏ使用のどちらかについての使用法を示すこともある。

【０２２０】

本発明は、本明細書に記載されている抗体（９ＴＬまたは６Ｇなど）、ポリペプチド、ポリヌクレオチドのうちのいずれかを含むキットも提供する。一部の実施形態において、本発明のキットは、上記に記載されている容器を含む。他の実施形態において、本発明のキットは、上記に記載されている容器および緩衝液を含む第２の容器を含む。他の緩衝液、希釈液、フィルター、針、注射器、および本明細書に記載されている任意の方法（ＡＭＤを治療するための方法、および脳におけるＡβペプチドの蓄積を阻害または低減するための方法）を行うための説明書付きの添付文書を含む、商業的および使用者の立場から望ましい他の材料がさらに含まれることがある。ＡβまたはβＡＰＰを検出または精製するのに使用すべきキットにおいて、抗体は、通常、例えば、放射性同位元素、蛍光化合物、生物発光化合物、化学発光化合物、金属キレート剤または酵素などの検出可能なマーカーで標識される。

【０２２１】

一部の実施形態において、本発明は、医薬品としての使用および／または医薬品を製造するための使用に関連しているかは別にして、本明細書に記載されている方法のうちのいずれかにおいて使用するための組成物（本明細書に記載されている）を提供する。

【０２２２】

以下の実施例は、例示のために提供されるのであって、本発明を限定するものではない。

（実施例）

【実施例１】

【０２２３】

抗体９ＴＬおよびその変異体の結合親和性の決定

Ａ．一般法

以下の一般法を、本実施例で使用した。

【０２２４】

クローンの特徴付けに使用される発現ベクター

抗体のＦａｂフラグメントの発現は、Ｂａｒｂａｓ（２００１）Ｐｈａｇｅ　ｄｉｓｐｌａｙ：ａ　ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ　ｍａｎｕａｌ、Ｃｏｌｄ　Ｓｐｒｉｎｇ　Ｈａｒｂｏｒ、ＮＹ、Ｃｏｌｄ　Ｓｐｒｉｎｇ　Ｈａｒｂｏｒ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ　Ｐｒｅｓｓ　ｐｇ２．１０．Ｖｅｃｔｏｒ　ｐＣｏｍｂ３Ｘに記載されているプロモーターに類似しているＩＰＴＧ誘導性ｌａｃＺプロモーターの制御下としたが、改変には、以下の追加ドメイン、すなわち、ヒトκ軽鎖定常ドメインおよびＩｇＧ２ａヒト免疫グロブリンのＣＨＩ定常ドメイン、Ｉｇγ－２鎖Ｃ領域、タンパク質アクセッション番号Ｐ０１８５９；免疫グロブリンκ軽鎖（ヒト）、タンパク質アクセッション番号ＣＡＡ０９１８１の付加および発現が含まれていた。

【０２２５】

小規模なＦａｂ調製

９６ウェルプレートにおけるＦａｂの小規模な発現を以下の通り行った。Ｆａｂライブラリーを形質移入した大腸菌（Ｅ．ｃｏｌｉ）から出発し、コロニーを採取し、マスタープレート（寒天ＬＢ＋アンピシリン（５０μｇ／ｍｌ）＋２％グルコース）と作業プレート（２ｍｌ／ウェル、ＬＢ＋アンピシリン（５０μｇ／ｍｌ）＋２％グルコース１．５ｍＬを含有する９６ウェル／プレート）の双方に接種した。両プレートを、３０℃にて８～１２時間培養した。マスタープレートを４℃にて保存し、作業プレートからの細胞を、５０００ｒｐｍでペレット化し、ＬＢ＋アンピシリン（５０μｇ／ｍｌ）＋１ｍＭ　ＩＰＴＧ　１ｍＬで再懸濁し、Ｆａｂの発現を誘導した。細胞を、３０℃にて５時間の発現後に遠心分離により採集し、次いで、緩衝液ＨＢＳ－Ｐ（１０ｍＭ　ＨＥＰＥＳ緩衝液ｐＨ７

．４、１５０ｍＭ　ＮａＣｌ、０．００５％　Ｐ２０）５００μＬに再懸濁した。ＨＢＳ－Ｐに再懸濁した細胞の溶解は、１サイクルの凍結（－８０℃）次いで３７℃における解凍によって行った。細胞ライセートを、５０００ｒｐｍにて３０分間遠心分離し、Ｆａｂを含有する上清から細胞残屑を分離した。次いで、上清を、ＢＩＡｃｏｒｅプラズモン共鳴装置に注入し、各Ｆａｂについての親和性の情報を得た。Ｆａｂを発現するクローンを、マスタープレートから取り出し、以下に記載されるような大規模なＦａｂの産生および詳細な特徴付けのためにＤＮＡを配列決定した。

【０２２６】

大規模なＦａｂ調製

詳細な速度論的パラメーターを得るため、Ｆａｂを、大きい培養液から発現および精製した。２００ｍＬのＬＢ＋アンピシリン（５０μｇ／ｍｌ）＋２％グルコースを含有する三角フラスコに、選択されたＦａｂ発現大腸菌（Ｅ．ｃｏｌｉ）クローンからの一夜培養液５ｍＬを接種した。クローンを、１．０のOD_{550nm}が得られるまで３０℃にてインキュベートし、次いで、２００ｍＬのＬＢ＋アンピシリン（５０μｇ／ｍｌ）＋１ｍＭＩＰＴＧに培地を置き換えた。３０℃にて５時間の発現後、細胞を遠心分離によりペレット化し、次いで、１０ｍＬのＰＢＳ（ｐＨ８）に再懸濁した。細胞の溶解は、２サイクルの凍結／解凍（それぞれ、－８０℃および３７℃）によって得られた。細胞ライセートの上清を、ＰＢＳで平衡化したＮｉ－ＮＴＡスーパーフローセファロース（Ｑｉａｇｅｎ、Ｖａｌｅｎｃｉａ．ＣＡ）カラム上にロードし、次いで、５カラム体積のＰＢＳ、ｐＨ８で洗浄した。個々のＦａｂは、ＰＢＳ（ｐＨ８）＋３００ｍＭイミダゾールで様々な画分に溶出した。Ｆａｂを含有する画分をプールし、ＰＢＳ中で透析し、次いで、親和性の特徴付けに先立ってＥＬＩＳＡにより定量化した。

【０２２７】

完全抗体（ｆｕｌｌ　ａｎｔｉｂｏｄｙ）の調製

完全抗体の発現のため、重および軽鎖可変領域を哺乳類の発現ベクターにクローン化し、一過性発現のためにＨＥＫ２９３細胞中にリポフェクタミンを用いて形質移入した。抗体を、標準的な方法を用いてタンパク質Ａを用いて精製した。

【０２２８】

ベクターｐＤｂ．９ＴＬ．ｈＦｃ２ａは、９ＴＬ抗体の重鎖を含む発現ベクターであり、重鎖の一過性または安定発現に適している。ベクターｐＤｂ．９ＴＬ．ｈＦｃ２ａは、以下の領域、すなわち、マウスサイトメガロウイルスプロモーター領域（ヌクレオチド１～６１２）；合成イントロン（ヌクレオチド６１９～１５０７）；ＤＨＦＲコーディング領域（ヌクレオチド７０７～１２６７）；ヒト成長ホルモンシグナルペプチド（ヌクレオチド１５２５～１６０２）；９ＴＬの重鎖可変領域（ヌクレオチド１６０３～１９５１）；以下の突然変異、すなわち、Ａ３３０Ｐ３３１からＳ３３０Ｓ３３１（野生型ＩｇＧ２ａ配列に準拠したアミノ酸ナンバリング；Ｅｕｒ．Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．（１９９９）２９：２６１３～２６２４を参照）を含有するヒト重鎖ＩｇＧ２ａ定常領域；ＳＶ４０遅発性（ｌａｔｅ）ポリアデニル化シグナル（ヌクレオチド２９６０～３２０３）；ＳＶ４０エンハンサー領域（ヌクレオチド３２０４～３４４９）；ファージｆ１領域（ヌクレオチド３５３７～４９９２）およびβラクタマーゼ（ＡｍｐＲ）コーディング領域（ヌクレオチド４４２９～５２８６）に対応するヌクレオチド配列を有する。ベクターｐＤｂ．９ＴＬ．ｈＦｃ２ａは、２００４年7月２０日にＡＴＣＣに寄託され、ＡＴＣＣアクセッション番号ＰＴＡ－６１２４を割り当てられた。

【０２２９】

ベクターｐＥｂ．９ＴＬ．ｈＫは、９ＴＬ抗体の軽鎖を含む発現ベクターであり、軽鎖の一過性発現に適している。ベクターｐＥｂ．９ＴＬ．ｈＫは、以下の領域、すなわち、マウスサイトメガロウイルスプロモーター領域（ヌクレオチド１～６１２）；ヒトＥＦ－１イントロン（ヌクレオチド６１９～１１４２）；ヒト成長ホルモンシグナルペプチド（ヌクレオチド１１７３～１１５０）；抗体９ＴＬ軽鎖可変領域（ヌクレオチド１２５１～１５９３）；ヒトκ鎖定常領域（ヌクレオチド１５９４～１９１４）；ＳＶ４０遅発性ポ

リアデニル化シグナル（ヌクレオチド１９３２～２１７５）；ＳＶ４０エンハンサー領域（ヌクレオチド２１７６～２４２１）；ファージｆ１領域（ヌクレオチド２５０９～２９６４）およびβラクタマーゼ（ＡｍｐＲ）コーディング領域（ヌクレオチド３４１０～４２５８）に対応するヌクレオチド配列を有する。ベクターｐＥｂ．９ＴＬ．ｈＫは、２００４年7月２０日にＡＴＣＣに寄託され、ＡＴＣＣアクセッション番号ＰＴＡ－６１２５を割り当てられた。

【０２３０】

Ｂｉａｃｏｒｅアッセイ

９ＴＬモノクローナル抗体の親和性は、ＢＩＡｃｏｒｅ３０００（商標）表面プラズモン共鳴（ＳＰＲ）システム（ＢＩＡｃｏｒｅ，Ｉｎｃ、Ｐｉｓｃａｗａｙ　ＮＪ）を用いて決定した。親和性を決定する一方法は、ＣＭ５チップ上に９ＴＬを固定化し、抗体に対するＡβ$_{1～40}$ペプチドの結合反応速度（ｂｉｎｄｉｎｇ　ｋｉｎｅｔｉｃｓ）を測定することである。ＣＭ５チップを、供給業者の説明書に従ってＮ－エチル－Ｎ’－（３－ジメチルアミノプロピル）－カルボジイミド塩酸（ＥＤＣ）およびＮ－ヒドロキシスクシンイミド（ＮＨＳ）で活性化した。抗体９ＴＬまたはその変異体を、１０ｍＭ酢酸ナトリウムｐＨ４．０または５．０中に希釈し、０．００５ｍｇ／ｍＬの濃度で活性化したチップ上に注入した。個々のチップチャネルにわたる可変フロータイムを用い、一連の抗体密度、すなわち１０００～２０００または２０００～３０００反応単位（ＲＵ）を得た。チップをエタノールアミンでブロックした。再生研究は、２倍量のＰＩＥＲＣＥ溶出緩衝液および１倍量の４Ｍ　ＮａＣｌを含有する溶液が、２００回を超える注入についてチップ上の９ＴＬの活性を保ちながら、結合したＡβ$_{1～40}$ペプチドを効率的に除去することを示した。ＨＢＳ－ＥＰ緩衝液（０．０１Ｍ　ＨＥＰＥＳ、ｐＨ７．４、０．１５Ｍ　ＮａＣｌ、３ｍＭ　ＥＤＴＡ、０．００５％界面活性剤Ｐ２０）を、すべてのＢＩＡｃｏｒｅアッセイのランニングバッファーとして使用した。精製したＡβ$_{1～40}$合成ペプチド試料の段階希釈液（０．１～１０×推定K_D）を１００μＬ／ｍｉｎで１分間注入し、１０分間の解離時間を置いた。速度論的な会合速度（k_{on}）および解離速度（k_{off}）は、ＢＩＡｅｖａｌｕａｔｉｏｎプログラムを用い、１：１ラングミュア結合モデル（Ｋａｒｌｓｓｏｎ，Ｒ．Ｒｏｏｓ、Ｈ．Ｆａｇｅｒｓｔａｍ、Ｌ．Ｐｅｔｅｒｓｓｏｎ，Ｂ．（１９９４）．Ｍｅｔｈｏｄｓ　Ｅｎｚｙｍｏｌｏｇｙ　６．９９～１１０）にデータを当てはめることにより同時に得られた。平衡解離定数（K_D）値は、$k_{off}／k_{on}$として算出した。

【０２３１】

代替方法として、親和性は、ＳＡチップ上にＡβ$_{1～40}$ペプチドを固定化し、固定化されたＡβ$_{1～40}$ペプチドに対する９ＴＬ　Ｆａｂおよび９ＴＬ変異体のＦａｂの結合反応速度を測定することにより決定した。９ＴＬのＦａｂフラグメントおよびその変異体のＦａｂフラグメントの親和性は、表面プラズモン共鳴（ＳＰＲ）システム（ＢＩＡｃｏｒｅ３０００（商標）、ＢＩＡｃｏｒｅ，Ｉｎｃ．、Ｐｉｓｃａｗａｙ　ＮＪ）により決定した。ＳＡチップ（ストレプトアビジン）は、供給業者の説明書に従って使用した。ビオチン化Ａβペプチド１～４０を、ＨＢＳ－ＥＰ（１０ｍＭ　ＨＥＰＥＳ　ｐＨ７．４、１５０ｍＭ　ＮａＣｌ、３ｍＭ　ＥＤＴＡ、０．００５％　Ｐ２０）中に希釈し、０．００５ｍｇ／ｍＬの濃度でチップ上に注入した。個々のチップチャネルにわたる可変フロータイムを用い、抗体密度の２つの範囲、すなわち、詳細な速度論的研究のための１０～２００反応単位（ＲＵ）ならびに濃度試験およびスクリーニングのための５００～６００ＲＵを得た。再生研究は、１００ｍＭリン酸（２倍量の５０ｍＭ　ＮａＯＨおよび１倍量の７０％エタノールを含有する溶液を続けてもよい）が、２００回を超える注入についてチップ上のＡβペプチドの活性を保ちながら、結合したＦａｂを効率的に除去することを示した。ＨＢＳ－ＥＰ緩衝液を、すべてのＢＩＡｃｏｒｅアッセイのランニングバッファーとして使用した。精製したＦａｂ試料の段階希釈液（０．１～１０×推定K_D）を１００μＬ／ｍｉｎで２分間注入し、１０分間の解離時間を置いた。Ｆａｂタンパク質の濃度は、知られている濃度（アミノ酸分析により決定した）の標準Ｆａｂを用いるＥＬＩＳＡお

よび／またはＳＤＳ－ＰＡＧＥにより決定した。速度論的な会合速度（k_{on}）および解離速度（k_{off}）は、ＢＩＡｅｖａｌｕａｔｉｏｎプログラムを用い、１：１ラングミュア結合モデル（Ｋａｒｌｓｓｏｎ，Ｒ．Ｒｏｏｓ、Ｈ．Ｆａｇｅｒｓｔａｍ、Ｌ．Ｐｅｔｅｒｓｓｏｎ，Ｂ．（１９９４）．Ｍｅｔｈｏｄｓ Ｅｎｚｙｍｏｌｏｇｙ ６．９９～１１０）にデータを当てはめることにより同時に得られた。平衡解離定数（K_D）値は、k_{off}／k_{on}として算出した。

【０２３２】

Ｂ．抗体９ＴＬおよびその変異体のＡ$\beta_{1\sim40}$に対する結合親和性

抗体９ＴＬの重鎖および軽鎖可変領域のアミノ酸配列を図１に示す。上記に記載されているＢｉａｃｏｒｅの両方法を用いて決定された抗体９ＴＬのＡ$\beta_{1\sim40}$に対する結合親和性を以下の表２に示す。

【０２３３】

【表２】

表２．抗体９ＴＬおよびＦａｂフラグメントの結合親和性

	k_{on} (1/Ms)	K_{off} (1/s)	K_D (nM)
CM5 チップ上の 9TL mAb、その上に流された $A\beta_{1\sim40}$	4.25×10^{5}	3.89×10^{-4}	0.9
SA チップ上の $A\beta_{1\sim40}$、その上に流された 9TL Fab	3.18×10^{5}	3.59×10^{-4}	1.13

【０２３４】

９ＴＬの変異体のアミノ酸配列を以下の表３に示す。表３に示す変異体のすべてのアミノ酸置換は、９ＴＬの配列と比較して記載されている。９ＴＬ変異体のＦａｂフラグメントの結合親和性も表３に示す。K_Dおよび他の速度論的パラメーターは、ＳＡチップ上に固定化されたＡ$\beta_{1\sim40}$について上記に記載されているＢＩＡｃｏｒｅ分析により決定した。

【０２３５】

【表３－１】

表３．抗体９ＴＬ変異体のアミノ酸配列および速度論的データ。

クローン	H1 (1)	H2	H3	L1	L2	L3	k_{on} (Ms^{-1}) (2)	k_{off} (s^{-1})	K_D (nM) (3)
9TL							3.18×10^{5}	3.59×10^{-4}	1.13
22-T/I						L102I	3.18×10^{5}	4.60×10^{-4}	1.45
C6 new						L102T	3.56×10^{5}	9.20×10^{-4}	2.58
W1				Y31A、A34S		L102T	3.18×10^{5}	9.00×10^{-3}	28.30
W8				Y31H、A34S、K35A		L102T	3.18×10^{5}	3.80×10^{-3}	11.95
W5				Y31H、K35A		L102T	3.18×10^{5}	4.00×10^{-3}	12.58
M1						L94M	3.18×10^{5}	8.60×10^{-4}	2.70
M2						L94N	3.18×10^{5}	1.10×10^{-3}	3.46
M3						L94C	3.18×10^{5}	1.30×10^{-3}	4.09
M4						L94F	3.18×10^{5}	9.95×10^{-4}	3.13
M5						L94V	3.18×10^{5}	1.65×10^{-3}	5.19
M6						L94K	3.18×10^{5}	4.10×10^{-3}	12.89
M7						L94S	3.18×10^{5}	6.00×10^{-3}	18.87
M8						L94Q	3.18×10^{5}	6.80×10^{-3}	21.38
M9						L94G	3.18×10^{5}	7.80×10^{-3}	24.53
M10						L94S	3.18×10^{5}	8.30×10^{-3}	26.10
M11						G96S	3.18×10^{5}	2.00×10^{-3}	6.29
M12						G96T	3.18×10^{5}	3.30×10^{-3}	10.38
M13						T97S	3.18×10^{5}	3.90×10^{-4}	1.23
M14						H98L	3.18×10^{5}	1.60×10^{-3}	5.03
M15						Y99P	3.18×10^{5}	6.70×10^{-4}	2.11
M16						Y99A	3.18×10^{5}	7.00×10^{-4}	2.20
M17						Y99W	3.18×10^{5}	1.00×10^{-3}	3.14
M18						Y99Q	3.18×10^{5}	1.50×10^{-3}	4.72
M19						Y99M	3.18×10^{5}	1.70×10^{-3}	5.35
M20						Y99S	3.18×10^{5}	2.00×10^{-3}	6.29
M21						Y99E	3.18×10^{5}	5.00×10^{-3}	15.72
M22						V101L	3.18×10^{5}	4.00×10^{-3}	12.58
M23						V101K	3.18×10^{5}	5.00×10^{-3}	15.72
M24						V101H	3.18×10^{5}	6.00×10^{-3}	18.87
M25						V101T	3.18×10^{5}	8.00×10^{-3}	25.16

【０２３６】

【表３－２】

M26						V101A	3.18×10^{5}	9.00×10^{-3}	28.30
M27						V101E	3.18×10^{5}	1.20×10^{-2}	37.74
M28						V101M	3.18×10^{5}	1.40×10^{-2}	44.03
M29						L102S	3.18×10^{5}	7.60×10^{-4}	2.39
M30						L102V	3.18×10^{5}	6.80×10^{-4}	2.14
M31			L99V				3.18×10^{5}	1.00×10^{-2}	31.45
M32			L99I				3.18×10^{5}	2.00×10^{-2}	62.89
M33			Y100W				3.18×10^{5}	6.30×10^{-4}	1.98
M34			S101T				3.18×10^{5}	8.00×10^{-4}	2.52
M35			S101G				3.18×10^{5}	9.00×10^{-3}	28.30
M36			L102R				3.18×10^{5}	9.00×10^{-4}	2.83
M37			L102A				3.18×10^{5}	9.20×10^{-4}	2.89
M38			L102V				3.18×10^{5}	1.50×10^{-3}	4.72
M39			L102S				3.18×10^{5}	2.30×10^{-3}	7.23
M40			L102T				3.18×10^{5}	4.50×10^{-3}	14.15
M41			L102Q				3.18×10^{5}	1.00×10^{-2}	31.45
M42			L102E				3.18×10^{5}	1.50×10^{-2}	47.17
M43			V104I				3.18×10^{5}	3.00×10^{-4}	0.94
M44			V104T				3.18×10^{5}	3.00×10^{-3}	9.43
M45			V104P				3.18×10^{5}	1.50×10^{-2}	47.17
M46			V104C				3.18×10^{5}	2.00×10^{-2}	62.89
M47			V104Q				3.18×10^{5}	2.00×10^{-2}	62.89
M48			V104S				3.18×10^{5}	2.60×10^{-2}	81.76
M49			V104N				3.18×10^{5}	2.60×10^{-2}	81.76
M50			V104F				3.18×10^{5}	2.70×10^{-2}	84.91
M51			Y105H				3.18×10^{5}	8.60×10^{-4}	2.70
M52			Y105F				3.18×10^{5}	1.30×10^{-3}	4.09
M53			Y105W				3.18×10^{5}	1.30×10^{-3}	4.09
M54			Y105S				3.18×10^{5}	2.40×10^{-3}	7.55
M55			Y105I				3.18×10^{5}	3.00×10^{-3}	9.43
M56			Y105V				3.18×10^{5}	3.50×10^{-3}	11.01
M57			Y105A				3.18×10^{5}	3.90×10^{-3}	12.26

１＝すべてのＣＤＲは、Ｋａｂａｔ　ＣＤＲとＣｈｏｔｈｉａ　ＣＤＲの双方を含む拡大ＣＤＲである。アミノ酸残基は、連続的に番号付けされている。

２＝下線を引いたk_{on}は、実験的に決定した。他は、９ＴＬと同じであると推定した。

３＝K_D値は、$K_D=k_{off}/k_{on}$として算出した。

【実施例２】

【０２３７】

抗体９ＴＬが結合するＡβ１～４０ペプチド上のエピトープの特徴付け

抗体９ＴＬによって認識されるＡβペプチド上のエピトープを決定するため、表面プラ

ズモン共鳴（ＳＰＲ、Ｂｉａｃｏｒｅ３０００）結合分析を使用した。ビオチン（Ｇｌｏｂａｌ　Ｐｅｐｔｉｄｅ　Ｓｅｒｖｉｃｅｓ，ＣＯ）とカップリングさせたＡβ$_{1～40}$ポリペプチドを、ストレプトアビジンでコーティングしたチップ（ＳＡチップ）上に固定化した。Ａβペプチドの様々な可溶性フラグメント（１０μＭにて、Ａｍｅｒｉｃａｎ　Ｐｅｐｔｉｄｅ　Ｃｏｍｐａｎｙ　Ｉｎｃ．、ＣＡ製）の存在下または非存在下での、固定化されたＡβ$_{1～40}$とのＡβ抗体Ｆａｂフラグメント（５０ｎＭにて）の結合。Ａβ$_{1～40}$、Ａβ$_{1～42}$、およびＡβ$_{1～43}$のアミノ酸配列を表４で以下に示す。抗体９ＴＬ　ＦａｂフラグメントのＡβ$_{1～40}$との結合に置き換わったＡβペプチドは、それぞれＡβ$_{28～40}$、Ａβ$_{1～40}$、Ａβ$_{33～40}$、およびＡβ$_{17～40}$であった（図２）。したがって、抗体９ＴＬは、Ａβ$_{1～40}$のＣ末端ペプチド（３３～４０）と結合する。図２に示すように、Ａβ$_{1～28}$、Ａβ$_{28～42}$、Ａβ$_{22～35}$、Ａβ$_{1～16}$、Ａβ$_{1～43}$、およびＡβ$_{1～38}$ペプチドは、抗体９ＴＬ　Ｆａｂフラグメントの結合を阻害せず、抗体９ＴＬは、Ａβ$_{1～40}$ペプチドのＣ末端と結合することを示唆した。

【０２３８】

さらに、Ａβ$_{28～42}$およびＡβ$_{1～43}$ペプチドは、抗体９ＴＬがＡβ$_{1～40}$と結合するのを阻害しなかったが、それらは、Ａβ$_{1～40}$の１６～２８と結合する対照抗体（抗体２２８９、この抗体は、米国出願公開第２００４／０１４６５１２およびＷＯ０４／０３２８６８に記載されている）とのＡβ$_{1～40}$の結合を容易に阻害することができた。これらの結果は、抗体９ＴＬが、Ａβ$_{1～42}$およびＡβ$_{1～43}$ではなくＡβ$_{1～40}$と優先的に結合することを示している。

【０２３９】

【表４】

表４．βアミロイドペプチドのアミノ酸配列

1～40 (WT)	DAEFRHDSGYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGL MVGGVV (配列番号15)
1～42 (WT)	DAEFRHDSGYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGL MVGGVVIA (配列番号16)
1～43 (WT)	DAEFRHDSGYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGL MVGGVVIAT (配列番号17)

【実施例３】

【０２４０】

モノクローナル抗体２Ｈ６および脱グリコシル化２Ｈ６の作製

Ａ．モノクローナル抗体２Ｈ６の作製および特徴付け

マウスを、Ｇｅｅｒｌｉｇｓ　ＨＪ他、１９８９、Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．Ｍｅｔｈｏｄｓ　１２４：９５～１０２；Ｋｅｎｎｅｙ　ＪＳ他、１９８９、Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．Ｍｅｔｈｏｄｓ　１２１：１５７～１６６；およびＷｉｃｈｅｒ　Ｋ他、１９８９、Ｉｎｔ．Ａｒｃｈ．Ａｌｌｅｒｇｙ　Ａｐｐｌ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．８９：１２８～１３５に記載されているように連続約１６週間間隔でアジュバント（１足蹠につき５０μｌ、１匹のマウスにつき計１００μｌ）中のＫＬＨにコンジュゲートしたペプチド（Ａβ$_{1～40}$のアミノ酸２８～４０）２５～１００μｇで免疫化した。まず、マウスを、ＣＦＡ（完全フロインドアジュバント）中のペプチド５０μｇで免疫化した。次に、２１日後、マウスを、ＩＦＡ（不完全フロインドアジュバント）中のペプチド２５μｇで免疫化した。２回目の免疫化から２３日後、３回目の免疫化を、ＩＦＡ中のペプチド２５μｇで行った。１０日後、ＥＬＩＳＡを用いて抗体価をテストした。３回目の免疫化の３４日後、４回目の免疫化を、ＩＦＡ中のペプチド２５μｇで行った。４回目の免疫化の３２日後、最後の追加免疫を１００μｇの可溶性ペプチドで行った。

【０２４１】
免疫化したマウスから脾細胞を取得し、ポリエチレングリコール１５００により、１０：１の比でＮＳＯ骨髄腫細胞と融合させた。ハイブリッドを、２０％ウマ血清および２－オキサロ酢酸／ピルビン酸／インスリン（Ｓｉｇｍａ）を含有するＤＭＥＭ中で９６ウェルプレート中にプレートアウトし、ヒポキサンチン／アミノプテリン／チミジン選択を開始した。８日目に、２０％ウマ血清を含有するＤＭＥＭ　１００μｌをすべてのウェルに加えた。ハイブリッドの上清を、抗体捕捉イムノアッセイを用いることによりスクリーニングした。抗体クラスの決定は、クラス特異的な第２抗体で行った。
【０２４２】
モノクローナル抗体産生細胞系の一団を、特徴付けのために選択した。選択された１つの細胞系は、２Ｈ６と命名された抗体として産生する。この抗体は、ＩｇＧ２ｂ重鎖を有すると判定された。
【０２４３】
Ａβ$_{1\sim40}$に対する抗体２Ｈ６の親和性を決定した。モノクローナル抗体２Ｈ６は、タンパク質Ａ親和性クロマトグラフィーを用い、ハイブリドーマ培養液の上清から精製した。上清を、ｐＨ８まで平衡化した。次いで、上清を、ＰＢＳでｐＨ８まで平衡化されたタンパク質ＡカラムＭａｂＳｅｌｅｃｔ（Ａｍｅｒｓｈａｍ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ　＃１７－５１９９－０２）にロードした。カラムを、５カラム体積のＰＢＳ、ｐＨ８で洗浄した。抗体は、５０ｍＭクエン酸－リン酸緩衝液、ｐＨ３で溶出された。溶出された抗体を、１Ｍリン酸緩衝液、ｐＨ８で中和した。精製抗体を、ＰＢＳで透析した。抗体濃度は、マウスｍＡｂ標準曲線を用い、ＳＤＳ－ＰＡＧＥにより決定した。
【０２４４】
２Ｈ６　Ｆａｂは、Ｉｍｍｕｎｏｐｕｒｅ　Ｆａｂキット（ｐｉｅｒｃｅ　＃４４８８５）を用いて２Ｈ６完全抗体のパパインタンパク質分解により調製し、製造者説明書に従ってタンパク質Ａクロマトグラフィーに通して流すことにより精製した。濃度は、１０Ｄ＝０．６ｍｇ／ｍｌを用いるＳＤＳ－ＰＡＧＥおよびＡ２８０により決定した。
【０２４５】
２Ｈ６モノクローナル抗体の親和性は、ＢＩＡｃｏｒｅ３０００（商標）表面プラズモン共鳴（ＳＰＲ）システム（ＢＩＡｃｏｒｅ，ＩＮＣ、Ｐｉｓｃａｗａｙ　ＮＪ）を用いて決定した。親和性を決定する一方法は、ＣＭ５チップ上に２Ｈ６抗体を固定化し、抗体に対するＡβ$_{1\sim40}$ペプチドの結合反応速度を測定することである。ＣＭ５チップを、供給業者の説明書に従ってＮ－エチル－Ｎ’－（３－ジメチルアミノプロピル）－カルボジイミド塩酸（ＥＤＣ）およびＮ－ヒドロキシスクシンイミド（ＮＨＳ）で活性化した。２Ｈ６モノクローナル抗体を、１０ｍＭ酢酸ナトリウムｐＨ４．０または５．０中に希釈し、０．００５ｍｇ／ｍＬの濃度で活性化したチップ上に注入した。個々のチップチャネルにわたる可変フロータイムを用い、一連の抗体密度、すなわち１０００～２０００または２０００～３０００反応単位（ＲＵ）を得た。チップをエタノールアミンでブロックした。再生研究は、Ｐｉｅｒｃｅ溶出緩衝液（製品番号２１００４、Ｐｉｅｒｃｅ　Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ、Ｒｏｃｋｆｏｒｄ、ＩＬ）と４Ｍ　ＮａＣｌの混合物（２：１）が、２００回を超える注入についてチップ上の２Ｈ６抗体の活性を保ちながら、結合したＡβ$_{1\sim40}$ペプチドを効率的に除去することを示した。ＨＢＳ－ＥＰ緩衝液（０．０１Ｍ　ＨＥＰＥＳ、ｐＨ７．４、０．１５Ｍ　ＮａＣｌ、３ｍＭ　ＥＤＴＡ、０．００５％界面活性剤Ｐ２０）を、すべてのＢＩＡｃｏｒｅアッセイのランニングバッファーとして使用した。精製したＡβ$_{1\sim40}$合成ペプチド試料の段階希釈液（０．１～１０×推定K_D）を１００μＬ／ｍｉｎで１分間注入し、１０分間の解離時間を置いた。速度論的な会合速度（k_{on}）および解離速度（k_{off}）は、ＢＩＡｅｖａｌｕａｔｉｏｎプログラムを用い、１：１ラングミュア結合モデル（Ｋａｒｌｓｓｏｎ，Ｒ．Ｒｏｏｓ、Ｈ．Ｆａｇｅｒｓｔａｍ、Ｌ．Ｐｅｔｅｒｓｓｏｎ，Ｂ．（１９９４）．Ｍｅｔｈｏｄｓ　Ｅｎｚｙｍｏｌｏｇｙ　６．９９～１１０）にデータを当てはめることにより同時に得られた。平衡解離定数（K_D）値は、k_{off}／k_{on}として算出した。

【０２４６】
代替方法として、親和性は、ＳＡチップ上にＡβ$_{1～40}$ペプチドを固定化し、固定化されたＡβ$_{1～40}$ペプチドに対する２Ｈ６　Ｆａｂの結合反応速度を測定することにより決定した。２Ｈ６　Ｆａｂフラグメントの親和性は、表面プラズモン共鳴（ＳＰＲ）システム（ＢＩＡｃｏｒｅ３０００（商標）、ＢＩＡｃｏｒｅ，Ｉｎｃ．、Ｐｉｓｃａｗａｙ　ＮＪ）により決定した。ＳＡチップ（ストレプトアビジン）は、供給業者の説明書に従って使用した。ビオチン化Ａβペプチド１～４０（配列番号１５）を、ＨＢＳ－ＥＰ（１０ｍＭ　ＨＥＰＥＳ　ｐＨ７．４、１５０ｍＭ　ＮａＣｌ、３ｍＭ　ＥＤＴＡ、０．００５％　Ｐ２０）中に希釈し、０．００５ｍｇ／ｍＬの濃度でチップ上に注入した。個々のチップチャネルにわたる可変フロータイムを用い、抗体密度の２つの範囲、すなわち、詳細な速度論的研究のための１０～２００反応単位（ＲＵ）および濃度試験のための５００～６００ＲＵを得た。再生研究は、Ｐｉｅｒｃｅ溶出緩衝液と４Ｍ　ＮａＣｌの混合物（２：１）が、２００回を超える注入についてチップ上のＡβペプチドの活性を保ちながら、結合したＦａｂを効率的に除去することを示した。ＨＢＳ－ＥＰ緩衝液を、すべてのＢＩＡｃｏｒｅアッセイのランニングバッファーとして使用した。精製したＦａｂ試料の段階希釈液（０．１～１０×推定K_D）を１００μＬ／ｍｉｎで２分間注入し、１０分間の解離時間を置いた。Ｆａｂタンパク質の濃度は、知られている濃度（アミノ酸分析により決定した）の標準Ｆａｂを用いるＥＬＩＳＡおよび／またはＳＤＳ－ＰＡＧＥにより決定した。速度論的な会合速度（k_{on}）および解離速度（k_{off}）は、ＢＩＡｅｖａｌｕａｔｉｏｎプログラムを用い、１：１ラングミュア結合モデル（Ｋａｒｌｓｓｏｎ，Ｒ．Ｒｏｏｓ、Ｈ．Ｆａｇｅｒｓｔａｍ、Ｌ．Ｐｅｔｅｒｓｓｏｎ，Ｂ．（１９９４）．Ｍｅｔｈｏｄｓ　Ｅｎｚｙｍｏｌｏｇｙ　６．９９～１１０）にデータを当てはめることにより同時に得られた。平衡解離定数（K_D）値は、k_{off}／k_{on}として算出した。上記に記載されている両方法を用いて決定された２Ｈ６抗体の親和性を以下の表５に示す。

【０２４７】
Ａβ$_{1～40}$のアミノ酸２８～４０のペプチドと結合するマウス抗体２２８６の親和性を、上記に記載されているようにテストした。抗体２２８６は、米国出願第１０／６８３，８１５号およびＰＣＴ／ＵＳ０３／３２０８０に記載されている。

【０２４８】
【表５】

表５．抗体２Ｈ６および２２８６の結合親和性

	k_{on} (1/Ms)	K_{off} (1/s)	K_D (nM)
CM5 チップ上の 2H6 mAb、その上に流された $A\beta_{1\sim40}$	4.67×10^5	3.9×10^{-3}	9
SA チップ上の $A\beta_{1\sim40}$O、その上に流された 2H6 Fab	6.3×10^5	3.0×10^{-3}	4.7
CM5 チップ上の 2286 mAb、その上に流された $A\beta_{1\sim40}$	1.56×10^5	0.0419	269
SA チップ上の $A\beta_{1\sim40}$、その上に流された 2286 Fab	1.8×10^5	0.044	245

【０２４９】
抗体２Ｈ６によって認識されるＡβポリペプチド上のエピトープを決定するため、表面プラズモン共鳴（ＳＰＲ、Ｂｉａｃｏｒｅ３０００）結合分析を使用した。ビオチン（Ｇｌｏｂａｌ　Ｐｅｐｔｉｄｅ　Ｓｅｒｖｉｃｅｓ，ＣＯ）とカップリングさせたＡβ$_{1～40}$ポリペプチド（配列番号１５）を、ストレプトアビジンでコーティングしたチップ（ＳＡチップ）上に固定化した。Ａβペプチドの様々な可溶性フラグメント（１６μＭにて、Ａｍｅｒｉｃａｎ　Ｐｅｐｔｉｄｅ　Ｃｏｍｐａｎｙ　Ｉｎｃ．、ＣＡ製）の存在下または非存在下での、固定化されたＡβ$_{1～40}$とのＡβ抗体（１００ｎＭにて）の結合。抗体２Ｈ６のＡβ$_{1～40}$との結合に置き換わったＡβペプチドは、それぞれＡβ$_{17～40}$、Ａβ$_{33～40}$、およびＡβ$_{1～40}$であった（図３）。したがって、抗体２Ｈ６は、Ａβ$_{1～40}$のＣ末端ペプチド（３３～４０）と結合する。しかしながら、Ａβ$_{1～40}$のこのＣ末端ペプチド（３３～４０）は、テストした濃度において抗体２２８６のＡ

$\beta_{1\sim40}$との結合に置き換わらなかった。図３に示すように、$A\beta_{1\sim38}$ペプチドは、抗体２Ｈ６または抗体２２８６が$A\beta_{1\sim40}$と結合するのを阻害せず、抗体２２８６と同様に、抗体２Ｈ６が結合するエピトープには、$A\beta_{1\sim40}$ペプチドのアミノ酸３９および／または４０が含まれることを示唆した（図３）。

【０２５０】

さらに、$A\beta_{1\sim42}$および$A\beta_{1\sim43}$ペプチドは、抗体２Ｈ６が$A\beta_{1\sim40}$と結合するのを阻害しなかったが、それらは、$A\beta_{1\sim40}$の１６～２８と結合する対照抗体（抗体２２８９、この抗体は、米国出願第１０／６８３，８１５号およびＰＣＴ／ＵＳ０３／３２０８０に記載されている）との$A\beta_{1\sim40}$の結合を容易に阻害することができた（図３）。これらの結果は、抗体２Ｈ６が、$A\beta_{1\sim42}$および$A\beta_{1\sim43}$ではなく$A\beta_{1\sim40}$と優先的に結合することを示している。

【０２５１】

抗体２Ｈ６が結合するβ－アミロイドペプチドの個別アミノ酸残基の関与をさらに評価するため、最後の６個のアミノ酸（$A\beta_{1\sim40}$アミノ酸残基３５～４０）の各々が、アラニンによって個別に置き換えられている（アラニンスキャニング突然変異誘発）様々な$A\beta_{1\sim40}$変異体を、部位特異的突然変異誘発により作製した。これらの$A\beta_{1\sim40}$変異体（表６に示す配列）は、グルタチオン－Ｓ－トランスフェラーゼ（ＧＳＴ）融合タンパク質（Ａｍｅｒｓｈａｍ　Ｐｈａｒｍａｃｉａ　Ｂｉｏｔｅｃｈ、Ｐｉｓｃａｔａｗａｙ、ＮＪ　ＵＳＡ）として大腸菌（Ｅ．ｃｏｌｉ）において発現され、続いて、グルタチオン－アガロースビーズ（Ｓｉｇｍａ－Ａｌｄｒｉｃｈ　Ｃｏｒｐ．、Ｓｔ．Ｌｏｕｉｓ、ＭＯ、ＵＳＡ）上で親和性精製した。対照として、野生型（ＷＴ）$A\beta_{1\sim40}$ならびに$A\beta_{1\sim41}$、$A\beta_{1\sim42}$、および$A\beta_{1\sim43}$も、ＧＳＴ融合タンパク質として発現させた。次いで、$A\beta_{1\sim40}$、$A\beta_{1\sim41}$、$A\beta_{1\sim42}$、$A\beta_{1\sim39}$ならびに６種の様々な変異体（表６に示すＭ３５Ａ（１～４０）、Ｖ３６Ａ（１～４０）、Ｇ３７Ａ（１～４０）、Ｇ３８Ａ（１～４０）、Ｖ３９Ａ（１～４０）、Ｖ４０Ａ（１～４０））を、ＥＬＩＳＡアッセイプレート上に固定化し（ウェル当たり０．０２５μｇ／μｌのＧＳＴ－ペプチド１００μｌ）、０．３ｎＭ以下の段階希釈液中のｍＡｂ　２２８６、２２８９、および２Ｈ６のうちのいずれかと共にインキュベートした（０．３ｎＭ　ｍＡｂを用いたデータを図４に示す）。１０回の連続洗浄後、アッセイプレートを、ウェル当たり０．０３μｇ／ｍｌのビオチン結合ヤギ抗マウス（Ｈ＋Ｌ）抗体（Ｖｅｃｔｏｒ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ、ベクター＃ＢＡ－９２００、Ｂｕｒｌｌｉｎｇａｍｅ　ＣＡ、ＵＳＡ）１００μｌと、続いてウェル当たり０．０２５μｇ／ｍｌのＨＲＰ結合ストレプトアビジン（Ａｍｅｒｓｈａｍ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ　Ｃｏｒｐ．、＃ＲＰＮ４４０１Ｖ、ＮＪ、ＵＳＡ）１００μｌと共にインキュベートした。プレートの吸光度を４５０ｎｍにて読み取った。

【０２５２】

【表６】

表６．βアミロイドペプチドおよび変異体のアミノ酸配列

1～40 (WT)	DAEFRHDSGYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGL MVGGVV	(配列番号15)
1～42 (WT)	DAEFRHDSGYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGL MVGGVVIA	(配列番号16)
1～43 (WT)	DAEFRHDSGYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGL MVGGVVIAT	(配列番号17)
1～41 (WT)	DAEFRHDSGYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGL MVGGVVI	(配列番号18)
1～39 (WT)	DAEFRHDSGYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGL MVGGV	(配列番号19)
M35A(1～40)	DAEFRHDSGYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGL AVGGVV	(配列番号20)
V36A(1～40)	DAEFRHDSGYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGL MAGGVV	(配列番号21)
G37A(1～40)	DAEFRHDSGYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGL MVAGVV	(配列番号22)
G38A(1～40)	DAEFRHDSGYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGL MVGAVV	(配列番号23)
V39A(1～40)	DAEFRHDSGYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGL MVGGAV	(配列番号24)
V40A(1～40)	DAEFRHDSGYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGL MVGGVA	(配列番号25)

【０２５３】

図４に示すように、Ａβのアミノ酸１６～２８を対象とするＭａｂ２２８９は、同じ強度ですべての変異体を認識し、プレート上のタンパク質濃度およびタンパク質完全性の内部陽性対照としての役割を果たした。抗体２Ｈ６は、図４に示すように、Ａβ$_{1～41}$、Ａβ$_{1～39}$またはＡβ$_{1～42}$を認識しなかった。Ａβ$_{1～40}$変異体Ｖ４０Ａ、Ｖ３９Ａ、Ｇ３８Ａ、Ｇ３７Ａ、Ｖ３６Ａ、およびＭ３５Ａは、抗体２Ｈ６に対する結合の減少を示し、抗体２Ｈ６エピトープが、Ａβ$_{1～40}$のＣ末端終末において少なくとも６個のアミノ酸にわたっていることを証明した。ＶおよびＧのＡへの突然変異は、極めて保存的であり、タンパク質における重要なコンホメーション変化を生じそうにないため、抗体２Ｈ６結合に対するこれらの突然変異の大きな影響は、Ａβとの関連で述べたアミノ酸を見分ける抗体の能力に起因している可能性があり、これらのデータは、この抗体に関する極めて高度な特異性を証明した。

【０２５４】

２Ｈ６および９ＴＬがＡβ$_{1～40}$との結合について競合するか否かを決定するため、Ｂｉａｃｏｒｅアッセイを用いて競合実験を行った。抗体２Ｈ６、９ＴＬおよび２２８９を、ＣＭ５チップの異なるチャネル上に固定化した。ＣＭ５チップチャネルを、供給業者の説明書に従ってＮ－エチル－Ｎ’－（３－ジメチルアミノプロピル）－カルボジイミド塩酸（ＥＤＣ）およびＮ－ヒドロキシスクシンイミド（ＮＨＳ）で活性化した。抗体２Ｈ６、９ＴＬおよび２２８９を、各々、１０ｍＭ酢酸ナトリウムｐＨ４．０中に希釈し、０．００５ｍｇ／ｍＬの濃度で活性化したチップ上に注入した。抗体密度は、２Ｈ６については１６２５反応単位（ＲＵ）、９ＴＬについては４０００ＲＵ、２２８９については２２００ＲＵとした。各チャネルをエタノールアミンでブロックした。Ａβ$_{1～40}$ペプチド（１５０ｕＭ）を、チップ上に２分間流した。次いで、０．６ｕＭの抗体２Ｈ６（結合の競合についてテストされる）を、チップ上に１分間流した。ＨＢＳ－ＥＰ緩衝液（０．０１Ｍ　ＨＥＰＥＳ、ｐＨ７．４、０．１５Ｍ　ＮａＣｌ、３ｍＭ　ＥＤＴＡ、０．００５％界面活性剤Ｐ２０）を、すべてのＢＩＡｃｏｒｅアッセイのランニングバッファーとして使用した。Ａβ$_{1～40}$の結合を測定した後、チップのすべてのチャネルを、Ｐｉｅｒｃｅ溶出緩衝液（製品番号２１００４、Ｐｉｅｒｃｅ　Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ、

Ｒｏｃｋｆｏｒｄ、ＩＬ）と４Ｍ　ＮａＣｌの混合物（２：１）で６秒間、２回洗浄することにより再生させた。次いで、競合結合を抗体９ＴＬについて、次いで、抗体２２８９について行った。Ａβ$_{1～40}$との結合について９ＴＬと２Ｈ６の間の競合が観察されたが、９ＴＬと２２８９または２Ｈ６と２２８９の間に競合は観察されなかった。固定化された抗体とチップ上に流された同じ抗体の間の競合の観察は、陽性対照としての役割を果たした。

【０２５５】

Ｂ．抗体２Ｈ６はＡＰＰと結合しない

２Ｈ６がアミロイド前駆体タンパク質（ＡＰＰ）と結合するか否かを決定するため、野生型ＡＰＰを形質移入した細胞に対する２Ｈ６の結合を決定した。２９３細胞を、野生型ヒトアミロイド前駆体タンパク質をコードするｃＤＮＡで形質移入した。形質移入の４８時間後、細胞を、モノクローナル抗体抗Ａβ$_{1～16}$、抗Ａβ$_{16～28}$または２Ｈ６（１０％ＦＣＳを添加したＤＭＥＭ中５ｕｇ／ｍｌ）と共に氷上で４５分間インキュベートした。次いで、細胞をＰＢＳ中で５分間、３回洗浄し、４％ＰＦＡで固定した。細胞を、ＰＢＳ中で再び３回洗浄し、抗体結合を、蛍光顕微鏡下でＪａｃｋｓｏｎ　Ｉｍｍｕｎｏｒｅｓｅａｒｃｈ製の二次Ｃｙ３結合ヤギ抗マウス抗体（１：５００の希釈）で検出した。

【０２５６】

抗Ａβ$_{1～16}$および抗Ａβ$_{16～28}$抗体は、Ａβ中のＮ末端または中心エピトープを認識し、双方とも、細胞上で発現されるＡＰＰ前駆体タンパク質との有意な結合を示した。対照的に、２Ｈ６は、ＡＰＰ発現細胞と結合しなかった。

【０２５７】

Ｃ．脱グリコシル化抗体２Ｈ６の作製

脱グリコシル化抗体２Ｈ６を作製するため、精製抗体２Ｈ６を、２０ｍＭ　Ｔｒｉｓ－ＨＣｌ　ｐＨ８．０中のペプチド－Ｎ－グリコシダーゼＦ（Ｐｒｏｚｙｍｅ、抗体１ｍｇ当たり０．０５Ｕ）と共に３７℃にて７日間インキュベートした。脱グリコシル化の完全性は、ＭＡＬＤＩ－ＴＯＦ－ＭＳおよびタンパク質ゲル電気泳動により検証した。脱グリコシル化抗体を、タンパク質Ａクロマトグラフィーにより精製し、内毒素を、Ｑ－セファロースにより除去した。脱グリコシル化２Ｈ６のＡβ$_{1～40}$との結合親和性を、上記に記載されているＢｉａｃｏｒｅアッセイを用いてテストし、脱グリコシル化２Ｈ６のＡβ$_{1～40}$との結合親和性は、インタクトな抗体２Ｈ６と一致することが判明した。

【実施例４】

【０２５８】

加齢性黄斑変性症の動物モデルにおける網膜機能の保護および回復における脱グリコシル化抗体２Ｈ６（２Ｈ６－Ｄ）の効果

初期の研究（Ｍａｌｅｋ，Ｇ．他、ＰＮＡＳ　１０２：１１９００～５（２００５））は、３つの危険因子、すなわち（１）アポリポタンパク質アイソフォームＥ４（ＡＰＯＥ４）遺伝子型、（２）高齢（６５週超）および（３）高脂肪およびコレステロールの多い（ＨＦ－Ｃ）食事の組合せが、ヒトＡＭＤの臨床的特徴に極めて近似した動物モデルを生み出すことを立証した。老齢のＡＰＯＥ４マウスは、網膜色素上皮（ＲＰＥ）－色素変化、厚いびまん性のＲＰＥ下沈着、脂質の多いドルーゼン様沈着、ブルッフ膜の肥厚、光受容体変性に重なるＲＰＥ萎縮の斑状領域および脈絡膜血管新生（ＣＮＶ）を含む萎縮型と滲出型双方のヒトＡＭＤにおいて観察される形態学的特徴に類似した病理学的変化を発生した。これらの変化は、食事計画とは無関係に対照のヒトＡＰＯＥ３発現マウスのいずれにおいても検出されないばかりか、幼若ＡＰＯＥ４マウスでもいかなる病変も検出されなかった。機能障害は、全視野暗順応網膜電図から識別した。罹患動物は、対照と比較して、ａおよびｂ波振幅の顕著な低下を有していた。重要なことに、これらの組織病理学的および機能的変化は、３つすべての危険因子の存在を必要とした。自然に発生するＣＮＶのこの動物モデルは、ヒト疾患の生理学的に関連する危険因子を初めて組み込むモデルである。

【０２５９】
Ａ．実験プロトコル
抗体の投与。高齢の（６５週を超える）ヒトＡｐｏＥ４を発現する標的置換（ｔａｒｇｅｔｅｄ－ｒｅｐｌａｃｅｍｅｎｔ）マウスを実験に使用した。これらのマウスに存在するＡＭＤ様表現型は、以前に開示されている（Ｍａｌｅｋ，Ｇ．他、ＰＮＡＳ　１０２：１１９００～５（２００５））。８週間の治療試験の場合、６５週齢以上のＡｐｏＥ４－トランスジェニックマウスは、４群のうちの１群に割り付けた。第１群（Ｅ４－ＮＤ）は、普通食で継続的に維持された（ｎ＝２）。第２群（Ｅ４－ＨＦＣ－Ｒ１）は、高脂肪、コレステロール富化（ＨＦ－Ｃ）食を８週間給餌された（ｎ＝２）。第３群（Ｅ４－ＨＦＣ－Ｒ１）は、ＨＦ－Ｃ食を８週間給餌され、Ｒｉｎａｔ１（３ｍｇ／ｋｇ）の腹腔内注射を週に一度受けた（ｎ＝５）。第４群（Ｅ４－ＨＦＣ－Ｒ２）は、ＨＦ－Ｃ食を８週間給餌され、Ｒｉｎａｔ２（３ｍｇ／ｋｇ）の腹腔内注射を週に一度受けた（ｎ＝５）。試験の終了後、群を非盲検化した。Ｒｉｎａｔ１は、ＰＢＳビヒクルであり、Ｒｉｎａｔ２は、脱グリコシル化抗Ａβ抗体２Ｈ６（実施例３に記載されているようなマウスモノクローナル抗ヒトＡβ$_{28\sim40}$ＩｇＧ２ｂ「２Ｈ６－Ｄ」）であった。
【０２６０】
ｉｎ　ｖｉｖｏ評価。眼底検査を０週目に行い、一方、眼底およびフルオレセイン血管造影を８週目に行った。眼底カメラ（ＴＲＣ－５０ＥＸ　Ｒｅｔｉｎａ　Ｃａｍｅｒａ）を用い、写真を撮った。ＴＯＰＣＯＮ　ＩＭＡＧＥｎｅｔ（商標）システムを用いて画像を捕らえた。フルオレセイン色素（１０％フルオレセインナトリウム、約０．１ｍＬ／ｋｇ）を、血管アクセスポートを介して注入した。色素注入後、動脈相、早期動静脈相およびいくつかの晩期動静脈相を含むいくつかの時点で写真を撮り、新血管新生を評価し、ＣＮＶ病変に伴うフルオレセインの漏出をモニターした。フルオレセイン血管造影の解釈および分析は、眼科医によって独立に行われた。
【０２６１】
全血における総血漿コレステロールレベルを、８週間のＨＦ－Ｃ食の投与前後にマウス（５時間絶食した）から集めた。
【０２６２】
フルオレセイン血管造影（ＦＡ）。１匹の動物、Ｅ４－ＨＦＣ－Ｒ２は、血管造影の後期フレームで漏出の可能性を示した。この動物は、網膜電図前であるがＦＡ後に死亡し、組織は回収できなかった。
【０２６３】
網膜電図記録。９週目に、網膜電図（ＥＲＧ）記録を、少なくとも１２時間暗順応させた動物から得た。各動物を、ケタミン／キシラジンカクテルで麻酔し、瞳孔を拡大させ、３７℃の加温パッド上で動物を安定化した後、一滴の２．５％ヒドロキシプロピルメチルセルロースと一緒に眼に接触して置かれた銀線試験電極を用いてＥＲＧトレーシングを記録した。マウスを、明順応刺激装置チャンバーに入れ、動物を、閃光（０．０００５から出発し、１０００ｃｄ－ｓ／ｍ^{2}の最大強度を１ｌｏｇステップで減衰させる）に暴露した。ａ波振幅は、ベースラインからａ波トラフまで測定し、ｂ波振幅は、ａ波トラフからｂ波ピークまで測定した。
【０２６４】
組織学的分析。屠殺日に、マウスの体重を量り、Ａｖｅｒｔｉｎ（体重１０ｇｍ当たり０．２ｍｌ）を過剰投与し、次いで、２０ｍＬの食塩水で心臓内灌流した。脳を素早く摘出し、脳の左半分を、組織病理のために新たに調製した１０％ホルマリン中で１６時間浸漬固定した。３０ミクロンのビブラトーム切片を、１０％ＭｅＯＨ、１×ＰＢＳ、および２％　Ｈ２Ｏ２で前処理し、ＰＢＳで洗浄し、抗原回復のために８８％ギ酸中で１分間インキュベートし、５％正常ヤギ血清（ＮＧＳ）およびＰＢＳでブロックした。切片を、１％ＮＧＳ／ＰＢＳ中のビオチン化４Ｇ８一次抗体（β－アミロイドのアミノ酸残基１７～２４に対するＳｉｇｎｅｔ　４Ｇ８モノクローナルマウスヒトＩｇＧ２ｂ）の１：１０００希釈液と共に一夜インキュベートし、製造者によって記載されているようにＡＢＣ　Ｖ

ｅｃｔａｓｔａｉｎ Ｋｉｔ（Ｖｅｃｔｏｒ Ｌａｂｓ）を用いて可視化した。

【０２６５】

Ｂ．結果

脱グリコシル化抗体の投与による網膜機能の回復／保護

図５に示すように、高脂肪およびコレステロールの多い食事（Ｅ４－ＨＦＣ）を給餌されたＡｐｏＥ４マウスでは、普通食（Ｅ４－ＮＤ）を与えられたマウスに比べて、ａおよびｂ波振幅に統計的に有意な低下がある（ａ波 ｐ＝０．０１０６、ｂ波 ｐ＝０．０００８）。注射された動物から得られたＥＲＧを、我々のＥＲＧのベースラインセットと比較した。Ｅ４－ＨＦＣと比較して、注射された群のどちら（Ｅ４－ＨＦＣ－Ｒ１およびＥ４－ＨＦＣ－Ｒ２）にもａ波振幅に有意差はなかった（図示せず）。対照的に、ｂ波振幅は、Ｅ４－ＨＦＣ－Ｒ２群における網膜機能の顕著な回復および／または保護を示している（図６）。

【０２６６】

抗Ａβ抗体２Ｈ６－Ｄを注射したＨＦ－Ｃ食を与えられたＡＰＯＥ４マウスにおけるＡβ沈着物の減少。図７に例示するように、Ｅ４－ＨＦＣマウスにおける全Ａβ免疫染色は、対照ビヒクル群と比較して、抗体２Ｈ６－Ｄによる８週間の免疫療法後に減少した。

【０２６７】

Ｃ．結論

上記のデータは、１）抗Ａβ抗体２Ｈ６－Ｄを注射したマウスのＥＲＧによって証明されるような網膜機能の回復／保護および２）未治療ＡＭＤマウス群と比較して、マウス脳における抗体２Ｈ６－Ｄで治療した場合のアミロイド沈着の減少を証明している。

【実施例５】

【０２６８】

抗体６Ｇおよびその変異体の結合親和性の決定

Ａ．一般法

以下の一般法を、本実施例および他の実施例で使用した。

【０２６９】

クローンの特徴付けに使用される発現ベクター

抗体のＦａｂフラグメントの発現は、Ｂａｒｂａｓ（２００１）Ｐｈａｇｅ ｄｉｓｐｌａｙ：ａ ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ ｍａｎｕａｌ、Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ、ＮＹ、Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｐｒｅｓｓ ｐｇ２．１０．Ｖｅｃｔｏｒ ｐＣｏｍｂ３Ｘに記載されているプロモーターに類似しているＩＰＴＧ誘導性ｌａｃＺプロモーターの制御下としたが、改変には、以下の追加ドメイン、すなわち、ヒトκ軽鎖定常ドメインおよびＩｇＧ２ａヒト免疫グロブリンのＣＨＩ定常ドメイン、Ｉｇγ－２鎖Ｃ領域、タンパク質アクセッション番号Ｐ０１８５９；免疫グロブリンκ軽鎖（ヒト）、タンパク質アクセッション番号ＣＡＡ０９１８１の付加および発現が含まれていた。

【０２７０】

小規模なＦａｂ調製

９６ウェルプレートにおけるＦａｂの小規模な発現を以下の通り行った。Ｆａｂライブラリーを形質移入した大腸菌（Ｅ．ｃｏｌｉ）から出発し、コロニーを採取し、マスタープレート（寒天ＬＢ＋アンピシリン（５０μｇ／ｍｌ）＋２％グルコース）と作業プレート（２ｍｌ／ウェル、ＬＢ＋アンピシリン（５０μｇ／ｍｌ）＋２％グルコース１．５ｍＬを含有する９６ウェル／プレート）の双方に接種した。両プレートを、３０℃にて８～１２時間培養した。マスタープレートを４℃にて保存し、作業プレートからの細胞を、５０００ｒｐｍでペレット化し、ＬＢ＋アンピシリン（５０μｇ／ｍｌ）＋１ｍＭ ＩＰＴＧ １ｍＬで再懸濁し、Ｆａｂの発現を誘導した。細胞を、３０℃にて５時間の発現後に遠心分離により採集し、次いで、緩衝液ＨＢＳ－ＥＰ（１００ｍＭ ＨＥＰＥＳ緩衝液ｐＨ７．４、１５０ｍＭ ＮａＣｌ、０．００５％ Ｐ２０）５００μＬに再懸濁した。ＨＢＳ－Ｐに再懸濁した細胞の溶解は、１サイクルの凍結（－８０℃）次いで３７℃におけ

る解凍によって行った。細胞ライセートを、５０００ｒｐｍにて３０分間遠心分離し、Ｆａｂを含有する上清から細胞残屑を分離した。次いで、上清を、ＢＩＡｃｏｒｅプラズモン共鳴装置に注入し、各Ｆａｂについての親和性の情報を得た。Ｆａｂを発現するクローンを、マスタープレートから取り出し、以下に記載するような大規模なＦａｂの産生および詳細な特徴付けのためにＤＮＡを配列決定した。

【０２７１】

大規模なＦａｂ調製

詳細な速度論的パラメーターを得るため、Ｆａｂを、大きい培養液から発現および精製した。２００ｍＬのＬＢ＋アンピシリン（５０μｇ／ｍｌ）＋２％グルコースを含有する三角フラスコに、選択されたＦａｂ発現大腸菌（Ｅ．ｃｏｌｉ）クローンからの一夜培養液５ｍＬを接種した。クローンを、１．０のOD_{550nm}が得られるまで３０℃にてインキュベートし、次いで、２００ｍｌのＬＢ＋アンピシリン（５０μｇ／ｍｌ）＋１ｍＭＩＰＴＧに培地を置き換えた。３０℃にて５時間の発現後、細胞を遠心分離によりペレット化し、次いで、１０ｍＬのＰＢＳ（ｐＨ８）に再懸濁した。細胞の溶解は、２サイクルの凍結／解凍（それぞれ、－８０℃および３７℃）によって得られた。細胞ライセートの上清を、ＰＢＳ、ｐＨ８で平衡化したＮｉ－ＮＴＡスーパーフローセファロース（Ｑｉａｇｅｎ、Ｖａｌｅｎｃｉａ．ＣＡ）カラム上にロードし、次いで、５カラム体積のＰＢＳ、ｐＨ８で洗浄した。個々のＦａｂは、ＰＢＳ（ｐＨ８）＋３００ｍＭイミダゾールで様々な画分に溶出した。Ｆａｂを含有する画分をプールし、ＰＢＳ中で透析し、次いで、親和性の特徴付けに先立ってＥＬＩＳＡにより定量化した。

【０２７２】

完全抗体の調製

完全抗体の発現のため、重および軽鎖可変領域を哺乳類の発現ベクターにクローン化し、一過性発現のためにＨＥＫ２９３細胞中にリポフェクタミンを用いて形質移入した。抗体を、標準的な方法を用いてタンパク質Ａを用いて精製した。

【０２７３】

ベクターｐＤｂ．６Ｇ．ｈＦｃ２ａは、６Ｇ抗体の重鎖を含む発現ベクターであり、重鎖の一過性または安定発現に適している。ベクターｐＤｂ．６Ｇ．ｈＦｃ２ａは、以下の領域、すなわち、マウスサイトメガロウイルスプロモーター領域（ヌクレオチド１～６１２）；合成イントロン（ヌクレオチド６１９～１５０７）；ＤＨＦＲコーディング領域（ヌクレオチド７０７～１２６７）；ヒト成長ホルモンシグナルペプチド（ヌクレオチド１５２５～１６０２）；６Ｇの重鎖可変領域；以下の突然変異、すなわち、Ａ３３０Ｐ３３１からＳ３３０Ｓ３３１（野生型ＩｇＧ２ａ配列に準拠したアミノ酸ナンバリング；Ｅｕｒ．Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．（１９９９）２９：２６１３～２６２４を参照）を含有するヒト重鎖ＩｇＧ２ａ定常領域；ＳＶ４０遅発性ポリアデニル化シグナル；ＳＶ４０エンハンサー領域；ファージｆ１領域およびβラクタマーゼ（ＡｍｐＲ）コーディング領域に対応するヌクレオチド配列を有する。

【０２７４】

ベクターｐＥｂ．６Ｇ．ｈＫは、６Ｇ抗体の軽鎖を含む発現ベクターであり、軽鎖の一過性発現に適している。ベクターｐＥｂ．６Ｇ．ｈＫは、以下の領域、すなわち、マウスサイトメガロウイルスプロモーター領域（ヌクレオチド１～６１２）；ヒトＥＦ－１イントロン（ヌクレオチド６１９～１１４２）；ヒト成長ホルモンシグナルペプチド（ヌクレオチド１１７３～１１５０）；抗体６Ｇ軽鎖可変領域；ヒトκ鎖定常領域；ＳＶ４０遅発性ポリアデニル化シグナル；ＳＶ４０エンハンサー領域；ファージｆ１領域およびβラクタマーゼ（ＡｍｐＲ）コーディング領域に対応するヌクレオチド配列を有する。

【０２７５】

Ｂｉａｃｏｒｅアッセイ

６Ｇモノクローナル抗体の親和性は、上記の実施例１に記載されている方法を用い、ＢＩＡｃｏｒｅ３０００（商標）表面プラズモン共鳴（ＳＰＲ）システム（ＢＩＡｃｏｒｅ，ＩＮＣ、Ｐｉｓｃａｗａｙ　ＮＪ）を用いて決定した。

【０２７６】
ＥＬＩＳＡアッセイ
ＥＬＩＳＡを、抗体６Ｇおよび変異体の非ビオチン化Ａβペプチドとの結合を測定するために使用した。ＮＵＮＣｍａｘｉｓｏｒｐプレートを、４℃にて１時間超、ＰＢＳｐＨ７．４中の２．５ｕｇ／ｍｌのＡβペプチドでコーティングした。プレートを、ＰＢＳ緩衝液ｐＨ７．４中の１％ＢＳＡでブロックした。一次抗体（細胞上清、望ましい希釈で抗Ａβ抗体、または精製完全抗体もしくはＦａｂを含有する血清から）を、固定化したＡβペプチドと共に室温にて１時間インキュベートした。洗浄した後、プレートを、１：５０００希釈にて二次抗体、ＨＲＰ結合ヤギ抗ヒトκ鎖抗体（ＭＰ　Ｂｉｏｍｅｄｉｃａｌｓ、５５２３３）と共にインキュベートした。洗浄した後、結合している二次抗体を、ＴＭＢ基質（ＫＰＬ、５０－７６－０２、５０－６５－０２）を加えることにより測定した。ＨＲＰ反応を、１Ｍリン酸を加えることにより停止させ、４５０ｎｍにおける吸光度を測定した。

【０２７７】
ＥＬＩＳＡを、抗体６Ｇおよび変異体のビオチン化Ａβペプチドとの結合を測定するために使用した。ＮＵＮＣｍａｘｉｓｏｒｐプレートを、４℃にて１時間超、ＰＢＳｐＨ７．４中の６ｕｇ／ｍｌのストレプトアビジン（Ｐｉｅｒｃｅ、２１１２２）でコーティングした。プレートを、ＰＢＳ緩衝液ｐＨ７．４中の１％ＢＳＡでブロックした。洗浄した後、ＰＢＳ　ｐＨ７．４中のビオチン化Ａβペプチドを室温にて１時間インキュベートした。一次抗体（細胞上清、望ましい希釈で抗Ａβ抗体、または精製完全抗体もしくはＦａｂを含有する血清から）を、固定化したＡβペプチドと共に室温にて１時間インキュベートした。洗浄した後、プレートを、１：５０００希釈にて二次抗体、ＨＲＰ結合ヤギ抗ヒトκ鎖抗体（ＭＰ　Ｂｉｏｍｅｄｉｃａｌｓ、５５２３３）と共にインキュベートした。洗浄した後、結合している二次抗体を、ＴＭＢ基質（ＫＰＬ、５０－７６－０２、５０－６５－０２）を加えることにより測定した。ＨＲＰ反応を、１Ｍリン酸を加えることにより停止させ、４５０ｎｍにおける吸光度を測定した。

【０２７８】
Ｂ．抗体６Ｇおよびその変異体のＡβ$_{1\sim40}$、Ａβ$_{1\sim42}$および他のＡβペプチドに対する結合親和性
抗体６Ｇの重鎖および軽鎖可変領域のアミノ酸配列を図８に示す。上記に記載されているＢｉａｃｏｒｅを用いて決定された６Ｇ抗体のＡβ$_{1\sim40}$、Ａβ$_{1\sim42}$およびＡβ$_{22\sim37}$に対する結合親和性を以下の表７に示す。

【０２７９】
【表７】

表７．抗体６ＧＦａｂフラグメントの結合親和性

	k_{on} (1/Ms)	k_{off} (1/s)	K_D (nM)
ストレプトアビジンチップ上に固定化されたビオチン化 $A\beta_{1\sim40}$、その上に流された 6G Fab	3.0×10^{5}	7.0×10^{-4}	2
ストレプトアビジンチップ上に固定化されたビオチン化 $A\beta_{1\sim42}$、その上に流された 6G Fab	1.8×10^{4}	1.6×10^{-3}	80
ストレプトアビジンチップ上に固定化されたビオチン化 $A\beta_{22\sim37}$、その上に流された 6G Fab	3.6×10^{5}	3.9×10^{-3}	11

【０２８０】
６Ｇの変異体のアミノ酸配列を以下の表８に示す。表８に示す変異体のすべてのアミノ酸置換は、６Ｇの配列と比較して記載されている。６Ｇ変異体の相対的結合も表８に示す。結合は、ＥＬＩＳＡプレートの表面上に固定化された非ビオチン化Ａβ$_{1\sim40}$またはＡβ$_{1\sim42}$について上記に記載されているＥＬＩＳＡにより決定した。

【０２８１】
【表８】

表８．抗体６Ｇ変異体のアミノ酸配列および結合データ。

ELISAによる6G重鎖突然変異体結合データ							A450 ELISA	
クローン番号	突然変異						$A\beta_{1\sim40}$	$A\beta_{1\sim42}$
6G	F99	D100	N101	Y102	D103	R104	2.55	0.95
1A	Y						1.60	0.26
1B	M						0.37	0.22
1G	L						0.51	0.21
2G	P						0.30	0.50
3E	C						0.26	0.40
4G		S					1.41	0.30
5D		N					1.52	0.39
6A		T					0.86	0.31
7B			S				0.44	0.27
7D			C				0.23	0.31
8H			H				0.21	0.19
9E			R				0.22	0.26
10A				F			1.85	0.34
10E				L			0.41	0.24
10G				I			0.63	0.22
11D				M			0.29	0.24
2F					P		1.89	0.38
3A					A		1.16	0.28
3B					R		1.43	0.43
3C					G		2.30	0.76
4A						G	2.17	0.40
4B						F	2.48	0.71
4D						Q	2.45	1.00
6F						S	2.28	0.62

【０２８２】
【表９】

ELISAによる6G軽鎖突然変異体結合データ										A450 ELISA	
クローン番号	突然変異									$A\beta_{1\sim40}$	$A\beta_{1\sim42}$
6G	Q93	Q94	S95	K96	E97	F98	P99	W100	S101	2.49	0.61
2H	K									0.07	0.13
3A	P									0.08	0.13
4F	S									2.00	0.30
5B		G								0.09	0.14
7E		R								0.09	0.18
7F		K								0.12	0.19
10E			L							0.08	0.12
1A				N						2.02	0.32
1C				F						0.05	0.05
4A				A						2.09	0.28
4G				F						1.07	0.28
5H					R					2.60	0.85
6C					G					0.05	0.05
6D					T					2.41	1.34
6E					P					0.12	0.20
8G					V					2.60	0.90

【実施例６】

【０２８３】
抗体６Ｇが結合するＡβペプチド上のエピトープの特徴付け
抗体６Ｇによって認識されるＡβペプチド上のエピトープを決定するため、ＥＬＩＳＡ結合分析を使用した。様々なＡβペプチド（Ｇｌｏｂａｌ　Ｐｅｐｔｉｄｅ　Ｓｅｒｖｉｃｅｓ，ＣＯ）をＥＬＩＳＡプレート上に固定化した。６Ｇ完全抗体（２０ｎＭにて）の固定化されたＡβとの結合を、上記に記載されているようなＥＬＩＳＡにより決定した。$Aβ_{1～40}$、$Aβ_{1～42}$、および$Aβ_{1～43}$のアミノ酸配列を以下の表９に示す。図９に示すように、抗体６Ｇは、Ａβペプチド１７～４０、１７～４２、２２～３５、２８～４０、１～３８、１～４０、１～４２、１～４３、および２８～４２と結合するが、２８～４２との結合は、他のＡβペプチドよりもかなり弱い。抗体６Ｇは、Ａβペプチド１～１６、１～２８および３３～４０とは結合しなかった。したがって、抗体６Ｇは、様々な切断型Ａβペプチド、例えば、２２～３５、１～３８、１～４０、１～４２、および１～４３のＣ末端と結合する。
【０２８４】
以下の表９は、Ｂｉａｃｏｒｅアッセイを用いてk_{off}（１／ｓ）によって測定される６Ｇの$Aβ_{1～40}$または他のＡβペプチドに対する結合親和性の比較を示している。抗体６Ｇは、他のペプチドと比較して最も高い親和性で$Aβ_{1～40}$と結合し、切断型$Aβ_{1～40}$（１～３６、１～３７、１～３８、および１～３９など）、$Aβ_{1～42}$および$Aβ_{1～43}$との親和性は有意に低めである。これは、Ａβのアミノ酸４０（バリン）の側鎖または骨格が、６Ｇの$Aβ_{1～40}$との結合に関与しており、結合は、このアミノ酸が存在しないと著しく減少する（例えば、親和性の約１０から約５０～２５０倍の消失）ことを示している。カルボキシ末端がアミド化された$Aβ_{1～40}$との低めの親和性での結合は、６Ｇの$Aβ_{1～40}$との結合が、$Aβ_{1～40}$の遊離Ｃ末端を必要とするが、依存していないことを示している。$Aβ_{1～42}$および$Aβ_{1～43}$に対する低めの親和性結合は、単量体形態の$Aβ_{1～40}$と$Aβ_{1～42}$または$Aβ_{1～43}$の間のコンホメーションの差に起因するのかもしれない。$Aβ_{1～42}$の単量体は、溶液中の$Aβ_{1～40}$単量体と異なるコンホメーションを有することが分かっている。アクセッション番号１ＩＹＴによりＰｒｏｔｅｉｎ　Ｄａｔａ　Ｂａｎｋ（ｐｄｂファイル）に示される$Aβ_{1～42}$についての単量体構造座標、およびアクセッション番号１ＢＡ６および１ＢＡ４によりＰｒｏｔｅｉｎ　Ｄａｔａ　Ｂａｎｋ（ｐｄｂファイル）に示される$Aβ_{1～40}$についての単量体構造座標を参照されたい。
【０２８５】

【表１０】

表９．

Aβペプチド フラグメント	k_{off} (1/s)	K_{off}Aβペプチド/$k_{off}Aβ_{1\sim40}$ (親和性の消失倍率)
1～28	-	
1～43	極めて低い結合	
22～35	0.0285	215.9
1～36	0.0205	155.3
1～37	0.0149	112.8
1～38	9.3×10^{-3}	70.4
1～39	7.92×10^{-3}	60.0
17～42	0.0465	352.2
1～42	1.9×10^{-3}	14.4
28～42	3.37×10^{-3}	25.5
28～40-NH2#	3.62×10^{-3}	27.4
28～40	6.4×10^{-4}	4.8
17～40	2.15×10^{-4}	1.6
1～40	1.32×10^{-4}	1

アミン化学反応により６Ｇモノクローナル抗体（リガンド）が固定化されたＣＭ５チップ上に分析物として流されたペプチド

＃カルボキシ末端がアミド化されたペプチド

【０２８６】

抗体６Ｇのエピトープマッピングを、ＥＬＩＳＡアッセイにより行った。様々なＡβペプチドのビオチン化１５量体または１０量体（これらのペプチドは、Ｃ末端に付加されたグリシンを有する）を、ストレプトアビジンをコーティングしたプレート上に固定化した。抗体６Ｇ（２．５ｕｇ／ｍｌ～１０ｕｇ／ｍｌ）を、固定化されたペプチドと共にインキュベートし、結合を、上記に記載されているように測定した。図１０に示すように、抗体６Ｇは、Ｃ末端にグリシンのあるアミノ酸２０～３４、２１～３５、２２～３６、２３～３７、２４～３８、２５～３９および２５～３４のＡβペプチドと結合したが、これらのペプチドのＣ末端にグリシンを有するアミノ酸１９～３３、２６～４０、２７～４１、２４～３３、および２６～３５のＡβペプチドとは結合しない。これは、抗体６Ｇが結合するエピトープには、アミノ酸２５～３４が含まれることを示唆している。

【０２８７】

上記に示すデータに基づき、抗体６Ｇが結合する抗体には、アミノ酸２５～３４および４０が含まれるようである。図１１は、抗体６Ｇのエピトープを示す略図である。

【０２８８】

Ｂ．抗体６Ｇは、ＡＰＰと結合しない

６Ｇがアミロイド前駆体タンパク質（ＡＰＰ）と結合するか否かを決定するため、野生型ＡＰＰを形質移入した細胞に対する６Ｇの結合を決定した。ＨＥＫ２９３細胞を、野生型ヒトアミロイド前駆体タンパク質をコードするｃＤＮＡで形質移入した。形質移入の４８時間後、細胞を、モノクローナル抗体抗Ａβ$_{1\sim16}$、（ｍ２３２４）または６Ｇ（１０％ＦＣＳを添加したＤＭＥＭ中５ｕｇ／ｍｌ）と共に氷上で４５分間インキュベートした。次いで、細胞をＰＢＳ中で５分間、３回洗浄し、４％ＰＦＡで固定した。細胞を、ＰＢＳ中で再び３回洗浄し、抗体結合を、蛍光顕微鏡下でＪａｃｋｓｏｎ Ｉｍｍｕｎｏｒｅｓｅａｒｃｈ製の二次Ｃｙ３結合ヤギ抗マウス抗体（１：５００の希釈）で検出した。

【０２８９】

図１２に示すように、Ａβ中のＮ末端エピトープを認識する抗Ａβ$_{1\sim16}$抗体は、細胞上で発現されるＡＰＰ前駆体タンパク質との有意な結合を示した。対照的に、６Ｇは、ＡＰＰ発現細胞と結合しなかった。

【実施例７】

【０２９０】
マウス抗体７Ｇ１０（抗Ａβ$_{1～42}$／Ａβ$_{1～43}$）の製造および特徴付け
マウスを、Ｋｏｎｉｇ，Ｇ．他、Ａｎｎａｌｓ　Ｎｅｗ　Ｙｏｒｋ　Ａｃａｄｅｍｙ　ｏｆ　Ｓｃｉｅｎｃｅｓ．７７７：３４４～５５（１９９６）に記載されているようにアジュバント中のＫＬＨにコンジュゲートされたペプチド約１００μｇで免疫化した。ＢＡ４ペプチドの２９～４２位は、ＡＰＰの推定膜貫通領域内に完全にあり、性質が疎水性であるため、ＫＬＨペプチドを、親水性スペーサーとコンジュゲートさせた。ＫＬＨ－ＨＤＧＤＧＤ－ＭＶＧＧＶＶＩＡを、Ａｎａｓｐｅｃにおいて合成した。５残基スペーサーは、不溶性の問題を克服し、担体から離れてＣ末端を延長するのに十分であった。１日目に、マウスを、皮下で、ＣＦＡ（完全フロインドアジュバント）と共に３５～４２／ＫＬＨペプチド１００μｇで免疫化した。１５日目に、マウスを、１００μｇのペプチド／ＫＬＨ　Ｒｉｂｉ／ミョウバンで免疫化した。５５日目に、マウスを、１５日目と同様に免疫化した。９５日目に、マウスを、静脈内で１００μｇのペプチド／ＫＬＨで追加免疫した。

【０２９１】
免疫化したマウスから脾細胞を取得し、９９日目に、ポリエチレングリコール１５００により１０：１の比で、Ｐ３×６３Ａｇ８．６５３骨髄腫細胞、ＡＴＣＣ　ＣＲＬ１５８０と融合させた。融合細胞を、２０％ウマ血清および２－オキサロ酢酸／ピルビン酸／インスリン（Ｓｉｇｍａ）を含有するＤＭＥＭ中で９６ウェルプレート中にプレートし、上清を、融合後１０日目から出発し、Ｅｌｉｓａアッセイを用い、２ｕｇ／ｍｌのＡβ１～４２（Ａｎａｓｐｅｃ）でコーティングしてアッセイした。陽性を選択して拡大し、さらに特徴付けした。

【０２９２】
融合の日のマウス血清力価は、Ａβ$_{1～42}$を含まないペプチドについてテストした場合、１／９０００であった。７Ｇ１０のＡβ１～４０、１～４２、および１～４３に対する結合親和性を、Ｂｉａｃｏｒｅにより分析した。

【０２９３】
Ｂｉａｃｏｒｅアッセイ
７Ｇ１０抗体の親和性を、実施例１にすでに記載されているようなＢＩＡｃｏｒｅ３０００（登録商標）を用いて決定した。Ｎ－ビオチン化Ａβ１～４０、１～４２、および１～４３を、ＳＡチップ上に捕捉した。抗Ａβ１～４０Ｆａｂ、抗Ａβ１～４２Ｆａｂ、および抗Ａβ１～４３Ｆａｂの３倍希釈シリーズをそれぞれ、上記に列挙されている７Ｇ１０ストックの１／６希釈から出発して注入した。チップは、６％ＥｔＯＨ＋６ｍＭ　ＮａＯＨの１８秒パルスで再生した。

【０２９４】
【表１１】

試料	IgG (mg/mL)	体積 (mL)	Fab (mg/mL)	体積 (mL)	KD (nM)
$Aβ_{1\sim40}$ペプチド	0.672	2.4	1.458	0.4	該当せず
$Aβ_{1\sim42}$ペプチド	0.672	2.4	1.458	0.4	37.6
$Aβ_{1\sim43}$ペプチド	0.672	2.4	1.458	0.4	41

【０２９５】
上記に示すように、７Ｇ１０は、Ａβ$_{1～42}$ペプチドに対して３７．６ｎＭのＫ$_{D}$およびＡβ$_{1～43}$ペプチドに対して４１ｎＭのＫ$_{D}$を有していた。Ａβ$_{1～40}$ペプチドに対しては測定可能な結合は検出されなかった。

【実施例８】

【０２９６】
加齢性黄斑変性症の動物モデルにおける網膜機能の保護および回復における抗体９ＴＬ、６Ｇおよび７Ｇ１０の比較効果
Ａ．実験プロトコル
抗体の投与。上記の実施例４に記載されているようなプロトコルを繰り返した。６５週齢以上のＡｐｏＥ４－トランスジェニックマウスは、８週間、５群のうちの１群に割り付けた。第１群（Ｅ４－ＮＤ）は、普通食で継続的に維持された（ｎ＝６）。第２群（Ｅ４－ＨＦＣ－Ｒ１）は、高脂肪、コレステロール富化（ＨＦ－Ｃ）食を８週間給餌された（ｎ＝１２）。第３群（Ｅ４－ＨＦＣ－Ｒ１）は、ＨＦ－Ｃ食を８週間給餌され、Ｒｉｎａｔ３（３ｍｇ／ｋｇ）の腹腔内注射を週に一度受けた（ｎ＝１２）。第４群（Ｅ４－ＨＦＣ－Ｒ２）は、ＨＦ－Ｃ食を８週間給餌され、Ｒｉｎａｔ４（３ｍｇ／ｋｇ）の腹腔内注射を週に一度受けた（ｎ＝１２）。第５群（Ｅ４－ＨＦＣ－Ｒ）は、ＨＦ－Ｃ食を８週間給餌され、Ｒｉｎａｔ５（３ｍｇ／ｋｇ）の腹腔内注射を週に一度受けた（ｎ＝１２）。試験の終了後、群を非盲検化した。Ｒｉｎａｔ３は、７Ｇ１０であり、Ｒｉｎａｔ４は、脱グリコシル化抗Ａβ抗体２Ｈ６であり、Ｒｉｎａｔ５は、６Ｇであった。
【０２９７】
眼底検査およびフルオレセイン血管造影を、上記の実施例４にすでに記載されているように行った。ＥＲＧ記録を、上記の実施例４にすでに記載されているように８週目の後に得た。
【０２９８】
結果
脱グリコシル化抗体の投与による網膜機能の回復／保護
図１３に示すように、ｂ波振幅は、２Ｈ６（Ｅ４－ＨＦＣ抗$Aβ_{1\sim40}$）．Ａ．で治療した群における網膜機能の有意な回復および／または保護を裏付けた。ｂ波振幅は、７Ｇ１０（Ｅ４－ＨＦＣ抗$Aβ_{1\sim42}$／$Aβ_{1\sim43}$）で治療した群に回復がほとんどないか、まったくないことを示している。驚いたことに、ｂ波振幅は、６Ｇ（Ｅ４－ＨＦＣ抗$Aβ_{1\sim40}$／$Aβ_{1\sim42}$）で治療した群における網膜機能のさらに大きな回復および／または保護を示している。図１４に示すように、６Ｇで治療した群のｂ波振幅は、正常マウスの対照群に匹敵し、網膜機能の完全な回復および／または保護を示していた。
【０２９９】
結論
上記のデータは、１）ＲＰＥ下アミロイドが、ＡＭＤにおいて病原性および／または毒性であること、２）抗Ａβ抗体２Ｈ６－Ｄを注射したマウスのＥＲＧによって証明された網膜機能の有意な回復／保護、および３）二重特異性抗$Aβ_{1\sim40}$／$Aβ_{1\sim42}$６Ｇを注射したマウスのＥＲＧによって証明された網膜機能の完全な回復および／または保護を示している。
【０３００】
当然のことながら、本明細書に記載されている実施例および実施形態は、例示目的のために過ぎず、それらを踏まえた様々な改変形態または変更形態が当業者に示唆され、本出願の精神および範囲内に含まれるべきである。本明細書に引用されているすべての刊行物、特許および特許出願は、各個別の刊行物、特許および特許出願が参照により組み込まれるように具体的および個別的に指示されている場合と同程度に、すべての目的から参照により全体として本明細書に組み込まれるものとする。
【０３０１】
生物学的材料の寄託
以下の材料は、Ａｍｅｒｉｃａｎ Ｔｙｐｅ Ｃｕｌｔｕｒｅ Ｃｏｌｌｅｃｔｉｏｎ、１０８０１ Ｕｎｉｖｅｒｓｉｔｙ Ｂｏｕｌｅｖａｒｄ、Ｍａｎａｓｓａｓ、Ｖｉｒｇｉｎｉａ２０１１０－２２０９、ＵＳＡ（ＡＴＣＣ）に寄託された。
【０３０２】

【表１２】

材料	抗体番号	ATCCアクセッション番号	寄託日
pDb.9TL.hFc2a	9TL重鎖	PTA-6124	2004年7月20日
pEb.9TL.hK	9TL軽鎖	PTA-6125	2004年7月20日
pDb.6G.hFc2a	6G重鎖	PTA-6786	2005年6月15日
pEb.6G.hK	6G軽鎖	PTA-6787	2005年6月15日

【０３０３】

ベクターｐＥｂ．９ＴＬ．ｈＫは、９ＴＬ軽鎖可変領域および軽鎖κ定常領域をコードするポリヌクレオチドであり、ベクターｐＤｂ．９ＴＬ．ｈＦｃ２ａは、９ＴＬ重鎖可変領域および以下の突然変異、すなわち、Ａ３３０Ｐ３３１からＳ３３０Ｓ３３１（野生型ＩｇＧ２ａ配列に準拠したアミノ酸ナンバリング；Ｅｕｒ．Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．（１９９９）２９：２６１３～２６２４を参照）を含有する重鎖ＩｇＧ２ａ定常領域をコードするポリヌクレオチドである。

【０３０４】

ベクターｐＥｂ．６Ｇ．ｈＫは、６Ｇ軽鎖可変領域および軽鎖κ定常領域をコードするポリヌクレオチドであり、ベクターｐＤｂ．６Ｇ．ｈＦｃ２ａは、６Ｇ重鎖可変領域および以下の突然変異、すなわち、Ａ３３０Ｐ３３１からＳ３３０Ｓ３３１（野生型ＩｇＧ２ａ配列に準拠したアミノ酸ナンバリング；Ｅｕｒ．Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．（１９９９）２９：２６１３～２６２４を参照）を含有する重鎖ＩｇＧ２ａ定常領域をコードするポリヌクレオチドである。

【０３０５】

これらの寄託は、特許手続きのための微生物寄託の国際認識に関するブダペスト条約およびその規則（ｔｈｅ Ｂｕｄａｐｅｓｔ Ｔｒｅａｔｙ ｏｎ ｔｈｅ Ｉｎｔｅｒｎａｔｉｏｎａｌ Ｒｅｃｏｇｎｉｔｉｏｎ ｏｆ ｔｈｅ Ｄｅｐｏｓｉｔ ｏｆ Ｍｉｃｒｏｏｒｇａｎｉｓｍｓ ｆｏｒ ｔｈｅ Ｐｕｒｐｏｓｅ ｏｆ Ｐａｔｅｎｔ Ｐｒｏｃｅｄｕｒｅ ａｎｄ ｔｈｅ Ｒｅｇｕｌａｔｉｏｎｓ ｔｈｅｒｅｕｎｄｅｒ）（ブダペスト条約）の規定の下で行われた。これは、寄託日から３０年間、寄託物の生存可能な培養物の維持を保証する。寄託物は、当該米国特許の発行または任意の米国もしくは外国の特許出願の一般人への公開のうちどちらか早い方が行われたならば、一般人に対する寄託物の培養物の子孫の永久的および無制限の入手可能性を保証し、米国特許商標庁長官によって３５ＵＳＣ Ｓｅｃｔｉｏｎ１２２およびそれに準じる長官規則（特に８８６ＯＧ６３８に関連して３７ＣＦＲ Ｓｅｃｔｉｏｎ１．１４を含む）に従って資格があると判断された者に対する子孫の入手可能性を保証するブダペスト条約の条項の下で、およびＲｉｎａｔ Ｎｅｕｒｏｓｃｉｅｎｃｅ Ｃｏｒｐ．とＡＴＣＣの間の合意に従ってＡＴＣＣにより入手可能とされるであろう。

【０３０６】

本出願の譲受人は、万一、寄託した材料の培養物が、適当な条件下で培養された場合に、死滅するか、または紛失もしくは破壊された場合、通知があり次第、材料をその別のものと即座に取り替えることに同意した。寄託された材料の入手可能性は、任意の政府の権限下でその特許法に従って付与された権利に違反して本発明を実施するためのライセンスであると解釈されるべきではない。

【０３０７】

抗体配列

９ＴＬ重鎖可変領域アミノ酸配列（配列番号１）

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYYTEAYYIHWVRQAPGQGLEWMGRIDPATGNTKYAPRLQDRVTMTRDTSTSTVY
MELSSLRSEDTAVYYCASLYSLPVYWGQGTTVTVSS

【０３０８】

９ＴＬ軽鎖可変領域アミノ酸配列（配列番号２）
DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLYSDAKTYLNWFQQRPGQSPRRLIYQISRLDPGVPDRFSGSGSGTDFTLKI
SRVEAEDVGVYYCLQGTHYPVLFGQGTRLEIKRT
【０３０９】
９ＴＬ　ＣＤＲ　Ｈ１（拡大ＣＤＲ）（配列番号３）
GYYTEAYYIH
【０３１０】
９ＴＬ　ＣＤＲ　Ｈ２（拡大ＣＤＲ）（配列番号４）
RIDPATGNTKYAPRLQD
【０３１１】
９ＴＬ　ＣＤＲ　Ｈ３（拡大ＣＤＲ）（配列番号５）
LYSLPVY
【０３１２】
９ＴＬ　ＣＤＲ　Ｌ１（拡大ＣＤＲ）（配列番号６）
KSSQSLLYSDAKTYLN
【０３１３】
９ＴＬ　ＣＤＲ　Ｌ２（拡大ＣＤＲ）（配列番号７）
QISRLDP
【０３１４】
９ＴＬ　ＣＤＲ　Ｌ３（拡大ＣＤＲ）（配列番号８）
LQGTHYPVL
【０３１５】
９ＴＬ重鎖可変領域ヌクレオチド配列（配列番号９）
CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGTGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGCGCTTCCGTGAAGGTTTCCTGCAAAGCATCTGGTTA
CTATACGGAGGCTTACTATATCCACTGGGTGCGCCAAGCCCCTGGTCAAGGCCTGGAGTGGATGGGCAGGATTGATCCTG
CGACTGGTAATACTAAATATGCCCCGAGGTTACAGGACCGGGTGACCATGACTCGCGATACCTCCACCAGCACTGTCTAC
ATGGAACTGAGCTCTCTGCGCTCTGAGGACACTGCTGTGTATTACTGTGCCTCCCTTTATAGTCTCCCTGTCTACTGGGG
CCAGGGTACCACTGTTACCGTGTCCTCT
【０３１６】
９ＴＬ軽鎖可変領域ヌクレオチド配列（配列番号１０）
GATGTTGTGATGACCCAGTCCCCACTGTCTTTGCCAGTTACCCTGGGACAACCAGCCTCCATATCTTGCAAGTCAAGTCA
GAGCCTCTTATATAGTGATGCCAAGACATATTTGAATTGGTTCCAACAGAGGCCTGGCCAGTCTCCACGCCGCCTAATCT
ATCAGATTTCCCGGCTGGACCCTGGCGTGCCTGACAGGTTCAGTGGCAGTGGATCAGGCACAGATTTTACACTTAAAATC
AGCAGAGTGGAGGCTGAAGATGTGGGAGTTTATTACTGCTTACAAGGTACACATTATCCGGTGCTCTTCGGTCAAGGGAC
CCGCCTGGAGATCAAACGCACT
【０３１７】
９ＴＬ重鎖完全抗体アミノ酸配列（本明細書に記載されているような改変ＩｇＧ２ａを含む）（配列番号１１）
QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYYTEAYYIHWVRQAPGQGLEWMGRIDPATGNTKYAPRLQDRVTMTRDTSTSTVY
MELSSLRSEDTAVYYCASLYSLPVYWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG
ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKCCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPP
KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSN
KGLPSSIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFF
LYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
【０３１８】
９ＴＬ軽鎖完全抗体アミノ酸配列（配列番号１２）
DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLYSDAKTYLNWFQQRPGQSPRRLIYQISRLDPGVPDRFSGSGSGTDFTLKI
SRVEAEDVGVYYCLQGTHYPVLFGQGTRLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQ
SGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
【０３１９】

９ＴＬ重鎖完全抗体ヌクレオチド配列（本明細書に記載されているような改変ＩｇＧ２ａを含む）（配列番号１３）

CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGTGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGCGCTTCCGTGAAGGTTTCCTGCAAAGCATCTGGTTA
CTATACGGAGGCTTACTATATCCACTGGGTGCGCCAAGCCCCTGGTCAAGGCCTGGAGTGGATGGGCAGGATTGATCCTG
CGACTGGTAATACTAAATATGCCCCGAGGTTACAGGACCGGGTGACCATGACTCGCGATACCTCCACCAGCACTGTCTAC
ATGGAACTGAGCTCTCTGCGCTCTGAGGACACTGCTGTGTATTACTGTGCCTCCCTTTATAGTCTCCCTGTCTACTGGGG
CCAGGGTACCACTGTTACCGTGTCCTCTGCCTCCACCAAGGGCCCATCTGTCTTCCCACTGGCCCCATGCTCCCGCAGCA
CCTCCGAGAGCACAGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCAGAACCTGTGACCGTGTCCTGGAACTCTGGC
GCTCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCAGCTGTCCTGCAGTCCTCAGGTCTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGT
GCCATCCAGCAACTTCGGCACCCAGACCTACACCTGCAACGTAGATCACAAGCCAAGCAACACCAAGGTCGACAAGACCG
TGGAGAGAAAGTGTTGTGTGGAGTGTCCACCTTGTCCAGCCCCTCCAGTGGCCGGACCATCCGTGTTCCTGTTCCCTCCA
AAGCCAAAGGACACCCTGATGATCTCCAGAACCCCAGAGGTGACCTGTGTGGTGGTGGACGTGTCCCACGAGGACCCAGA
GGTGCAGTTCAACTGGTATGTGGACGGAGTGGAGGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCAAGAGAGGAGCAGTTCAACTCCA
CCTTCAGAGTGGTGAGCGTGCTGACCGTGGTGCACCAGGACTGGCTGAACGGAAAGGAGTATAAGTGTAAGGTGTCCAAC
AAGGGACTGCCATCCAGCATCGAGAAGACCATCTCCAAGACCAAGGGACAGCCAAGAGAGCCACAGGTGTATACCCTGCC
CCCATCCAGAGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGTCTGGTGAAGGGATTCTATCCATCCGACATCGCCG
TGGAGTGGGAGTCCAACGGACAGCCAGAGAACAACTATAAGACCACCCCTCCAATGCTGGACTCCGACGGATCCTTCTTC
CTGTATTCCAAGCTGACCGTGGACAAGTCCAGATGGCAGCAGGGAAACGTGTTCTCTTGTTCCGTGATGCACGAGGCCCT
GCACAACCACTATACCCAGAAGAGCCTGTCCCTGTCTCCAGGAAAGTAATTCTAGA

【０３２０】

９ＴＬ軽鎖完全抗体ヌクレオチド配列（配列番号１４）

GATGTTGTGATGACCCAGTCCCCACTGTCTTTGCCAGTTACCCTGGGACAACCAGCCTCCATATCTTGCAAGTCAAGTCA
GAGCCTCTTATATAGTGATGCCAAGACATATTTGAATTGGTTCCAACAGAGGCCTGGCCAGTCTCCACGCCGCCTAATCT
ATCAGATTTCCCGGCTGGACCCTGGCGTGCCTGACAGGTTCAGTGGCAGTGGATCAGGCACAGATTTTACACTTAAAATC
AGCAGAGTGGAGGCTGAAGATGTGGGAGTTTATTACTGCTTACAAGGTACACATTATCCGGTGCTCTTCGGTCAAGGGAC
CCGCCTGGAGATCAAACGCACTGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCTCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCCGGAA
CTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCACGCGAGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAA
TCCGGTAACTCCCAGGAGAGTGTCACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCTGACCCTGAG
CAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGTTCTCCAGTCACAAAGAGCT
TCAACCGCGGTGAGTGCTAATTCTAG

【０３２１】

６Ｇ重鎖可変領域アミノ酸配列（配列番号２６）

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTTYAIHWVRQAPGQGLEWMGFTSPYSGVSNYNQKFKGRVTMTRDTSTSTVY
MELSSLRSEDTAVYYCARFDNYDRGYVRDYWGQGTLVTVS

【０３２２】

６Ｇ軽鎖可変領域アミノ酸配列（配列番号２７）

DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVDNDRISFLNWYQQKPGQPPKLLIYAATKQGTGVPDRFSGSGSGTDFTLTIS
SLQAEDVAVYYCQQSKEFPWSFGGGTKVEIKRTV

【０３２３】

６Ｇ　ＣＤＲ　Ｈ１（拡大ＣＤＲ）（配列番号２８）

GYTFTTYAIH

【０３２４】

６Ｇ　ＣＤＲ　Ｈ２（拡大ＣＤＲ）（配列番号２９）

FTSPYSGVSNYNQKFKG

【０３２５】

６Ｇ　ＣＤＲ　Ｈ３（拡大ＣＤＲ）（配列番号３０）

FDNYDRGYVRDY

【０３２６】

６Ｇ　ＣＤＲ　Ｌ１（拡大ＣＤＲ）（配列番号３１）

RASESVDNDRISFLN

【０３２７】
６Ｇ　ＣＤＲ　Ｌ２（拡大ＣＤＲ）（配列番号３２）
AATKQGT
【０３２８】
６Ｇ　ＣＤＲ　Ｌ３（拡大ＣＤＲ）（配列番号３３）
QQSKEFPWS
【０３２９】
６Ｇ重鎖可変領域ヌクレオチド配列（配列番号３４）
CAGGTGCAACTGGTGCAATCCGGTGCCGAGGTGAAAAAGCCAGGCGCCTCCGTGAAAGTGTCCTGCAAAGCCTCCGGTTA
CACCTTTACCACCTATGCCATCCATTGGGTGCGCCAGGCCCCAGGCCAGGGTCTGGAGTGGATGGGCTTTACTTCCCCCT
ACTCCGGGGTGTCGAATTACAATCAGAAGTTCAAAGGCCGCGTCACCATGACCCGCGACACCTCCACCTCCACAGTGTAT
ATGGAGCTGTCCTCTCTGCGCTCCGAAGACACCGCCGTGTATTACTGTGCCCGCTTCGACAATTACGATCGCGGCTATGT
GCGTGACTATTGGGGCCAGGGCACCCTGGTCACCGTCTCC
【０３３０】
６Ｇ軽鎖可変領域ヌクレオチド配列（配列番号３５）
GACATCGTGATGACCCAGTCCCCAGACTCCCTGGCCGTGTCCCTGGGCGAGCGCGCCACCATCAACTGCCGCGCCAGCGA
ATCCGTGGATAACGATCGTATTTCCTTTCTGAACTGGTACCAGCAGAAACCAGGCCAGCCTCCTAAGCTGCTCATTTACG
CCGCCACCAAACAGGGTACCGGCGTGCCTGACCGCTTCTCCGGCAGCGGTTCCGGCACCGATTTCACTCTGACCATCTCC
TCCCTGCAGGCCGAAGATGTGGCAGTGTATTACTGTCAGCAGTCCAAAGAGTTTCCCTGGTCCTTTGGCGGTGGCACCAA
GGTGGAGATCAAACGCACTGTG
【０３３１】
６Ｇ重鎖完全抗体アミノ酸配列（本明細書に記載されているような改変ＩｇＧ２ａを含む）（配列番号３６）
QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTTYAIHWVRQAPGQGLEWMGFTSPYSGVSNYNQKFKGRVTMTRDTSTSTVY
MELSSLRSEDTAVYYCARFDNYDRGYVRDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTV
SWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKCCVECPPCPAPPVAGPSV
FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYK
CKVSNKGLPSSIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDS
DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
【０３３２】
６Ｇ軽鎖完全抗体アミノ酸配列（配列番号３７）
DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVDNDRISFLNWYQQKPGQPPKLLIYAATKQGTGVPDRFSGSGSGTDFTLTIS
SLQAEDVAVYYCQQSKEFPWSFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS
GNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
【０３３３】
６Ｇ重鎖完全抗体ヌクレオチド配列（本明細書に記載されているような改変ＩｇＧ２ａを含む）（配列番号３８）
CAGGTGCAACTGGTGCAATCCGGTGCCGAGGTGAAAAAGCCAGGCGCCTCCGTGAAAGTGTCCTGCAAAGCCTCCGGTTA
CACCTTTACCACCTATGCCATCCATTGGGTGCGCCAGGCCCCAGGCCAGGGTCTGGAGTGGATGGGCTTTACTTCCCCCT
ACTCCGGGGTGTCGAATTACAATCAGAAGTTCAAAGGCCGCGTCACCATGACCCGCGACACCTCCACCTCCACAGTGTAT
ATGGAGCTGTCCTCTCTGCGCTCCGAAGACACCGCCGTGTATTACTGTGCCCGCTTCGACAATTACGATCGCGGCTATGT
GCGTGACTATTGGGGCCAGGGCACCCTGGTCACCGTCTCCTCAGCCTCCACCAAGGGCCCATCTGTCTTCCCACTGGCCC
CATGCTCCCGCAGCACCTCCGAGAGCACAGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCAGAACCTGTGACCGTG
TCCTGGAACTCTGGCGCTCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCAGCTGTCCTGCAGTCCTCAGGTCTCTACTCCCTCAG
CAGCGTGGTGACCGTGCCATCCAGCAACTTCGGCACCCAGACCTACACCTGCAACGTAGATCACAAGCCAAGCAACACCA
AGGTCGACAAGACCGTGGAGAGAAAGTGTTGTGTGGAGTGTCCACCTTGTCCAGCCCCTCCAGTGGCCGGACCATCCGTG
TTCCTGTTCCCTCCAAAGCCAAAGGACACCCTGATGATCTCCAGAACCCCAGAGGTGACCTGTGTGGTGGTGGACGTGTC
CCACGAGGACCCAGAGGTGCAGTTCAACTGGTATGTGGACGGAGTGGAGGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCAAGAGAGG
AGCAGTTCAACTCCACCTTCAGAGTGGTGAGCGTGCTGACCGTGGTGCACCAGGACTGGCTGAACGGAAAGGAGTATAAG
TGTAAGGTGTCCAACAAGGGACTGCCATCCAGCATCGAGAAGACCATCTCCAAGACCAAGGGACAGCCAAGAGAGCCACA

GGTGTATACCCTGCCCCCATCCAGAGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGTCTGGTGAAGGGATTCTATC
CATCCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGTCCAACGGACAGCCAGAGAACAACTATAAGACCACCCCTCCAATGCTGGACTCC
GACGGATCCTTCTTCCTGTATTCCAAGCTGACCGTGGACAAGTCCAGATGGCAGCAGGGAAACGTGTTCTCTTGTTCCGT
GATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTATACCCAGAAGAGCCTGTCCCTGTCTCCAGGAAAG

【０３３４】

６Ｇ軽鎖完全抗体ヌクレオチド配列（配列番号３９）

GACATCGTGATGACCCAGTCCCCAGACTCCCTGGCCGTGTCCCTGGGCGAGCGCGCCACCATCAACTGCCGCGCCAGCGA
ATCCGTGGATAACGATCGTATTTCCTTTCTGAACTGGTACCAGCAGAAACCAGGCCAGCCTCCTAAGCTGCTCATTTACG
CCGCCACCAAACAGGGTACCGGCGTGCCTGACCGCTTCTCCGGCAGCGGTTCCGGCACCGATTTCACTCTGACCATCTCC
TCCCTGCAGGCCGAAGATGTGGCAGTGTATTACTGTCAGCAGTCCAAAGAGTTTCCCTGGTCCTTTGGCGGTGGCACCAA
GGTGGAGATCAAACGCACTGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCTCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCCGGAACTG
CCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCACGCGAGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCC
GGTAACTCCCAGGAGAGTGTCACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCTGACCCTGAGCAA
AGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGTTCTCCAGTCACAAAGAGCTTCA
ACCGCGGTGAGTGC

【０３３５】

ｍ７Ｇ１０重鎖アミノ酸配列（配列番号４０）

EVKLVESGGDLVKPGGSLKLSCAASGFTFSTYAMSWIRQTPEKRLEWVASIG

NSSRTYYPDSVKGRFTISRDNAGSILYLQMSSLRSEDTAIYYCARGEDGNYAWFT

YWGQGTQVTVS

【０３３６】

ｍ７Ｇ１０軽鎖アミノ酸配列（配列番号４１）

DIVLTQSPATLSVTPGDSVSLSCRASQSVKNNLHWYQQKSHESPRLLIKYTFQS

MSGIPSRFSGSGSGTDFTLIINSVETEDFGMYFCQQSNRWPLTFGAGTKLEL

【０３３７】

ｍ７Ｇ１０　Ｈ１　ＣＤＲアミノ酸配列（配列番号４２）

TYAMS

【０３３８】

ｍ７Ｇ１０　Ｈ２　ＣＤＲアミノ酸配列（配列番号４３）

SIGNSSRTYYPDSVKG

【０３３９】

ｍ７Ｇ１０　Ｈ３　ＣＤＲアミノ酸配列（配列番号４４）

GEDGNYAWFTY

【０３４０】

ｍ７Ｇ１０　Ｌ１アミノ酸配列（配列番号４５）

RASQSVKNNLH

【０３４１】

ｍ７Ｇ１０　Ｌ２アミノ酸配列（配列番号４６）

YTFQSMS

【０３４２】

ｍ７Ｇ１０　Ｌ３アミノ酸配列（配列番号４７）

QQSNRWPLT

【０３４３】

ｍ７Ｇ１０ＨＣ重鎖ヌクレオチド配列（配列番号４８）

GAAGTGAAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGACTTAGTGAAGCCTGGAGGGTCCCTGAAACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATT
CACTTTCAGTACCTATGCCATGTCTTGGATTCGCCAGACTCCAGAGAAGAGGCTGGAGTGGGTCGCCTCCATTGGTAATA
GTAGTAGGACTTACTATCCAGACAGTGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGATAATGCCGGGAGCATCCTGTACCTC

CAAATGAGCAGTCTGAGGTCTGAGGACACGGCCATTTATTATTGTGCAAGAGGGGAAGATGGTAACTACGCCTGGTTTAC
TTACTGGGGCCAAGGGACTCAGGTCACCGTCTCC

【０３４４】

ｍ７Ｇ１０ＨＣ軽鎖ヌクレオチド配列（配列番号４９）

GATATTGTGCTAACTCAGTCTCCAGCCACCCTGTCTGTGACTCCAGGAGATAGCGTCAGTCTTTCCTGCAGGGCCAGCCA
AAGTGTTAAGAACAACCTACACTGGTATCAACAAAAGTCACATGAGTCTCCAAGGCTTCTCATCAAGTATACTTTCCAGT
CCATGTCTGGGATCCCCTCCAGGTTCAGTGGCAGTGGCTCAGGGACAGATTTCACTCTCATTATCAACAGTGTGGAGACT
GAAGATTTTGGAATGTATTTCTGTCAACAGAGTAACCGTTGGCCGCTCACGTTCGGTGCTGGGACCAAGCTGGAGCTG

【図面の簡単な説明】

【０３４５】

【図１】９ＴＬ抗体の重鎖可変領域（配列番号１）および軽鎖可変領域（配列番号２）のアミノ酸配列を示す図である。Ｋａｂａｔ　ＣＤＲは、太字テキストで表され、Ｃｈｏｔｈｉａ　ＣＤＲには下線が引かれている。重鎖および軽鎖可変領域についてのアミノ酸配列は、連続的に番号付けされている。

【図２】ペプチド競合による抗体９ＴＬのエピトープマッピングを示す図である。Ａβ$_{1\sim40}$ペプチドを、ＳＡチップ上に固定化した。モノクローナル抗体２２８９および９ＴＬ　Ｆａｂフラグメント（各５０ｎＭ）の各々を、１０μＭの様々なペプチド（Ａβのアミノ酸２８～４０、１～４０、１～２８、２８～４２、２２～３５、１～１６、１～４３、３３～４０、１～３８、または１７～４０）と共に、またはペプチドなしに１時間プレインキュベートし、次いで、チップ上に流した。抗体Ｆａｂフラグメントの固定化Ａβ$_{1\sim40}$ペプチドとの結合を測定した。

【図３】ペプチド競合による抗体２Ｈ６のエピトープマッピングを示すグラフを示す図である。Ａβ$_{1\sim40}$ペプチドを、ＳＡチップ上に固定化した。モノクローナル抗体２２８９、２２８６、または２Ｈ６（各１００ｎＭ）の各々を、１６μＭの様々なペプチド（Ａβのアミノ酸１～１６、１～２８、１～３８、１～４０、１～４２、１～４３、１７～４０、１７～４２、２２～３５、２５～３５、または３３～４０）と共に、またはペプチドなしに１時間プレインキュベートし、チップ上に流した。抗体の固定化Ａβ$_{1\sim40}$ペプチドとの結合を測定した。

【図４】抗体２Ｈ６、２２８６、および２２８９の様々なＡβペプチドＣ末端変異体との結合を示すグラフを示す図である。ＧＳＴ－Ａβ変異体（Ｍ３５Ａ、Ｖ３６Ａ、Ｇ３７Ａ、Ｇ３８Ａ、Ｖ３９Ａ、またはＶ４０Ａ）、またはＧＳＴ－Ａβペプチド１～３９、１～４１、１～４０、１～４２を、ＥＬＩＳＡプレート上に固定化した。モノクローナル抗体２２８６、２Ｈ６、または２２８９（各ｍＡｂ０．３ｎＭ）を、固体化ペプチドの各々と共にインキュベートし、それらの結合を、ビオチン化抗マウスＩｇＧ（Ｈ＋Ｌ）と、続いてストレプトアビジン－ＨＲＰと共にさらにインキュベートすることにより検出した。

【図５】普通食に対し高脂肪食および高コレステロール食を与えられた高齢のアポリポタンパク質アイソフォームＥ４（ＡＰＯＥ４）マウスからのａおよびｂ波の強度（Ａ）ならびにサンプル網膜電図（Ｂ）のグラフを示す図である。

【図６】普通食動物の前試験に対してプロットされたＡＰＯＥ４マウスのｂ波のみの強度のグラフを示す図である。Ｒ２トレースは、ＡＭＤ様マウス（Ｅ４－ＨＦＣ－Ｒ２）を抗Ａβ抗体で治療した場合の網膜機能の保護または回復を示している。

【図７】ＡＭＤ様（ＡＰＯＥ４）マウス脳の全Ａβ免疫組織化学を示す図である。スライドＡ（抗Ａβ抗体で治療されたＡＭＤ様マウス）は、陰性のアミロイド検出を示している。スライドＢ、Ｃ、およびＤ（ビヒクル注射で治療されたＡＭＤ様マウス）は、陽性のアミロイド検出を示している。スライドＥは、陽性対照から採取され、血小板由来ＡＰＰマウスモデル（ｐｄＡＰＰ、血小板由来増殖因子プロモーターの制御下の突然変異（Ｖ７１７Ｆ）ヒトＡＰＰ（Ｇａｍｅｓ，Ｄ．他　Ｎａｔｕｒｅ　３７３：５２３～５２７（１９９５））の脳から採取される。

【図８】６Ｇ抗体の重鎖可変領域（配列番号１）および軽鎖可変領域（配列番号２７）のアミノ酸配列を示す図である。Ｋａｂａｔ　ＣＤＲは、太字テキストで表され、Ｃｈｏｔ

ｈｉａ　ＣＤＲには下線が引かれている。重鎖および軽鎖可変領域についてのアミノ酸配列は、連続的に番号付けされている。

【図９】ＥＬＩＳＡによる抗体６Ｇのエピトープマッピングを示す図である。Ａβペプチド（１～１６、１～２８、１７～４０、１７～４２、２２～３５、２８～４０、２８～４２、１～３８、１～４０、１～４２、１～４３、および３３～４０）を、ＥＬＩＳＡプレート上に固定化した。モノクローナル抗体６Ｇ（２０ｎＭ）を、様々な固定化ペプチドと共に１時間インキュベートした。固定化Ａβペプチドと結合した抗体６Ｇを、ヤギ抗ヒトκＨＲＰ結合二次抗体を用いて測定した。

【図１０】ＥＬＩＳＡによる抗体６Ｇのエピトープマッピングを示す図である。様々なＡβペプチドを、ＥＬＩＳＡプレート上に固定化した。抗体６Ｇを、様々な固定化ペプチドと共に１時間インキュベートした。固定化Ａβペプチドと結合した抗体６Ｇを、ヤギ抗ヒトκＨＲＰ結合二次抗体を用いて測定した。「ＮＢ」は、結合が検出されないことを指す。

【図１１】抗体６ＧがＡβ上に結合するエピトープを示す略図を示す図である。細胞膜におけるアミロイド前駆体タンパク質（ＡＰＰ）おおびＡＰＰの部分におけるＡβの相対位置を示す。「ＣＴ９９」は、ＡＰＰのＣ末端９９アミノ酸を指す。

【図１２】$Aβ_{1\sim16}$（ｍ２３２４）を対象とするモノクローナル抗体および抗体６ＧによるＡＰＰ発現細胞の免疫染色を示す写真を示す図である。一番上のパネルは、細胞を、ｍ２３２４または６Ｇ（各５ｕｇ／ｍｌ）と共にインキュベートし、結合を、二次Ｃｙ３結合ヤギ抗マウスまたは抗ヒト抗体により検出した後の蛍光顕微鏡下の細胞を示している。一番下のパネルは、顕微鏡下で観察された細胞を示している。

【図１３】ＡＰＯＥ４マウスの５つの試験群、すなわち、普通食を与えた対照ＡＰＯＥ４マウス、高脂肪および高コレステロール食（「ＨＦＣ」）を与えた対照ＡＰＯＥ４マウス（ＡＭＤ様モデル）、７Ｇ１０で治療されたＡＰＯＥ４－ＨＦＣマウス、２Ｈ６で治療されたＡＰＯＥ４－ＨＦＣマウス、および６Ｇで治療されたＡＰＯＥ４－ＨＦＣマウスのｂ波のみの強度のグラフを示す図である。

【図１４】ＡＰＯＥ４マウスの３つの試験群、すなわち、普通食を与えた対照ＡＰＯＥ４マウス、対照ＡＰＯＥ４－ＨＦＣマウス、および６Ｇで治療されたＡＰＯＥ４－ＨＦＣマウスのｂ波のみの強度のグラフを示す図である。

【図１】

図１

太字 = **Kabat CDR**
下線 = Chothia CDR

9TL 重鎖

```
                                                                H1
1          5          10         15         20         25         29
Q V Q L V Q S G A E V K K P G A S V K V S C K A S G Y Y T
                                                          H2
30         35         40         45         50         55         58
E A Y Y I H W V R Q A P G Q G L E W M G R I D P A T G N T

59 60      65         70         75         80         85   87
K Y A P R L Q D R V T M T R D T S T S T V Y M E L S S L R
                      H3
88 90      95         100        105        110        115
S E D T A V Y Y C A S L Y S L P V Y W G Q G T T V T V S S
```

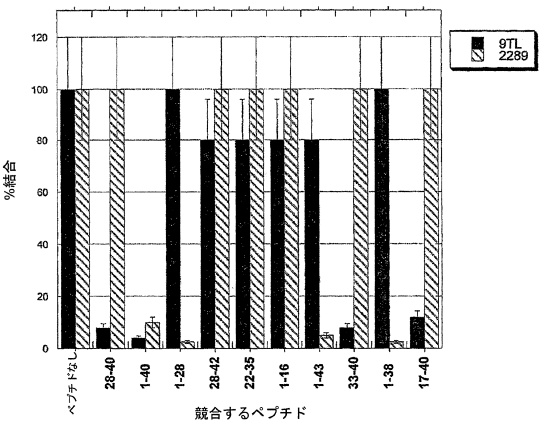
9TL 軽鎖

```
                                                          L1
1          5          10         15         20         25         29
D V V M T Q S P L S L P V T L G Q P A S I S C K S S Q S L
                                                    L2
30         35         40         45         50         55         58
L Y S D A K T Y L N W F Q Q R P G Q S P R R L I Y Q I S R

59 60      65         70         75         80         85   87
L D P G V P D R F S G S G S G T D F T L K I S R V E A E D
                L3
88 90      95         100        105        110        114
V G V Y Y C L Q G T H Y P V L F G Q G T R L E I K R T
```

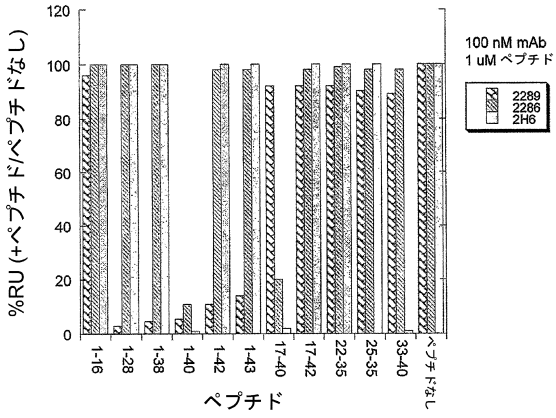
【図２】

図２



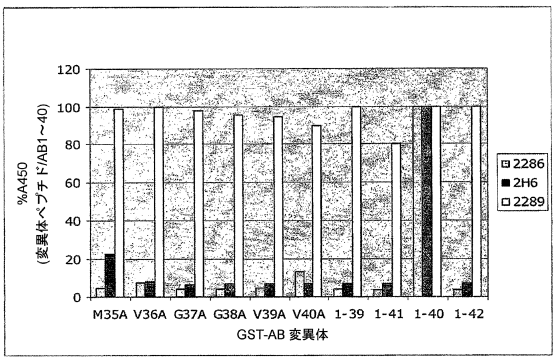
【図３】

図３



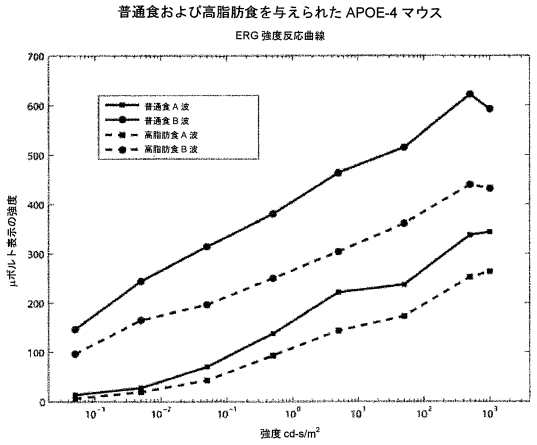
【図４】

図４



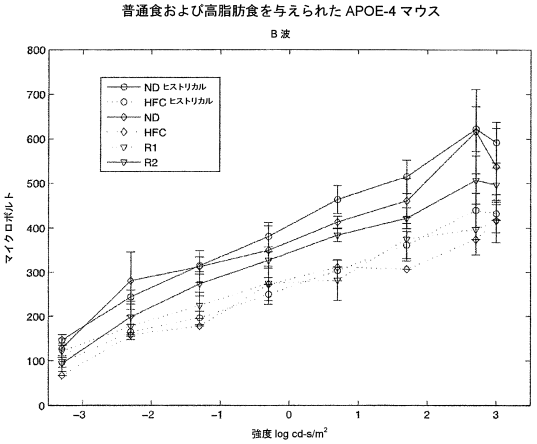
【図５】

図５



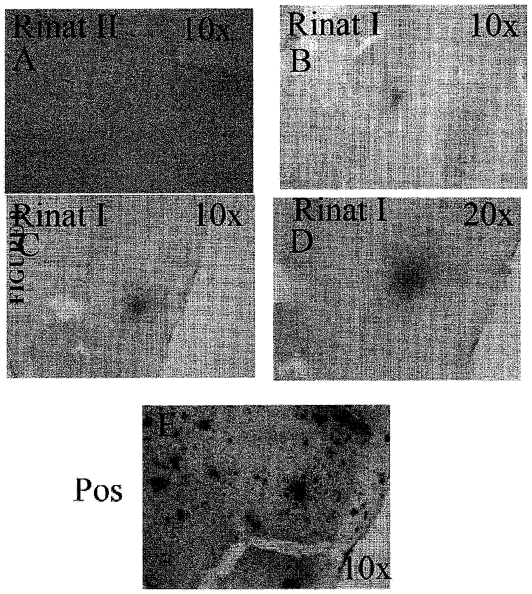
【図６】

図６



【図７】

図７



【図８】

図８

太字 = Kabat CDR

下線 = Chothia CDR

6G 重鎖可変ドメイン

```
                                        H1
1    5    10   15   20   25   30   35
QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTTYAIHWVRQ

                   H2
40   45   50   55   60   65   70   75
APGQGLEWMGFTSPYSGVSNYNQKFKGRVTMTRDTSTST

                              H3
 80   85   90   95   100  105  110  115
VYMELSSLRSEDTAVYYCARFDNYDRGYVRDYWGQGTLV

120
TVS
```

6G 軽鎖可変ドメイン

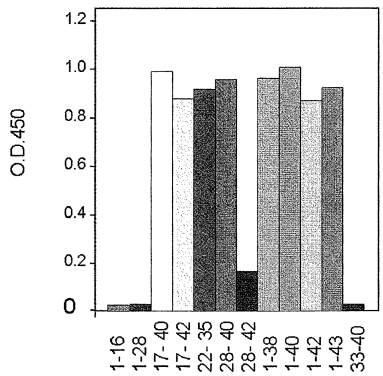
```
                                   L1
1    5    10   15   20   25   30   35
DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVDNDRISFLNW

                   L2
40   45   50   55   60   65   70   75
YQQKPGQPPKLLIYAATKQGTGVPDRFSGSGSGTDFTLT

                              L3
 80   85   90   95   100  105  110  114
ISSLQAEDVAVYYCQQSKEFPWSFGGGTKVEIKRTV
```

【図９】

図９



【図１０】

図１０

ELISA ペプチドスキャニングによる抗体 6G のエピトープマッピング

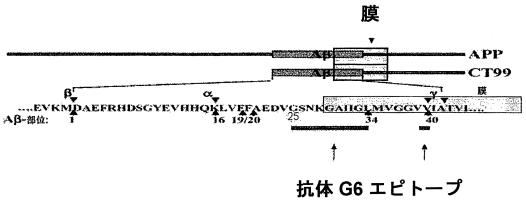
15 量体ペプチド	A450 ELISA
FFAEDVGSNKGAIIGG	NB
FAEDVGSNKGAIIGLG	>3
AEDVGSNKGAIIGLMG	>3
EDVGSNKGAIIGLMVG	>3
DVGSNKGAIIGLMVGG	2.3
VGSNKGAIIGLMVGGG	2.1
GSNKGAIIGLMVGGVG	1.5
SNKGAIIGLMVGGVVG	NB
NKGAIIGLMVGGVVIG	NB

10 量体ペプチド (テストした最小エピトープ)	
VGSNKGAIIGG	NB
GSNKGAIIGLG	2
SNKGAIIGLMG	NB

【図１１】

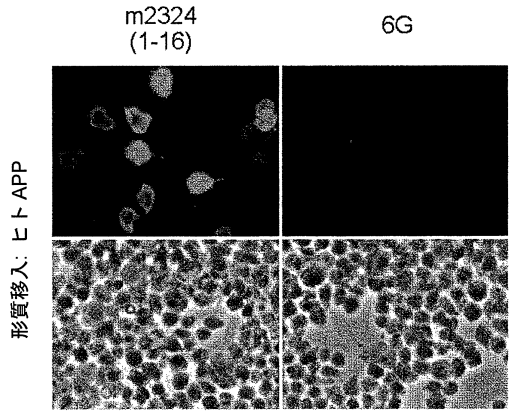
図１１

抗体 6G エピトープの略図



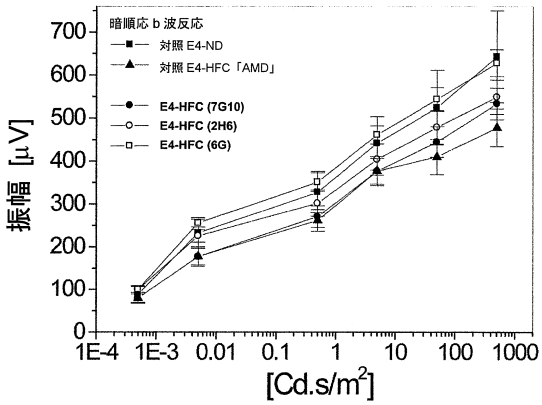
【図１２】

図１２



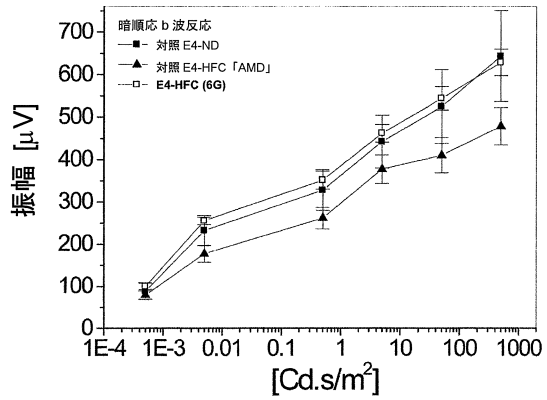
【図１３】

図１３



【図１４】

図１４


暗順応 b 波反応
対照 E4-ND
対照 E4-HFC「AMD」
E4-HFC (6G)
振幅 [μV]
700
600
500
400
300
200
100
0
1E-4
1E-3
0.01
0.1
1
10
100
1000
[Cd.s/m2]

フロントページの続き

合議体
審判長　大宅　郁治
審判官　大久保　元浩
審判官　齋藤　恵

(56)参考文献　国際公開第２００６／０３９３２７（WO，Ａ２）
国際公開第２００６／０８３５３３（WO，Ａ２）
国際公開第２００６／１１８９５９（WO，Ａ２）
国際公開第２００６／０３６２９１（WO，Ａ２）

(58)調査した分野(Int.Cl.，ＤＢ名)
A61K 39/395
C07K16/00
C12N15/00
ＣＡＰＬＵＳ／ＭＥＤＬＩＮＥ／ＢＩＯＳＩＳ／ＥＭＢＡＳＥ／ＷＰＩＤＳ（ＳＴＮ）