(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号
特許第7617848号
(P7617848)

(45)発行日　令和7年1月20日(2025.1.20)

(24)登録日　令和7年1月9日(2025.1.9)

(51)国際特許分類

C07K 16/18 (2006.01)	C07K	16/18	ZNA
C12N 1/15 (2006.01)	C12N	1/15	
C12N 1/19 (2006.01)	C12N	1/19	
C12N 1/21 (2006.01)	C12N	1/21	
C12N 5/10 (2006.01)	C12N	5/10	

FI

請求項の数　18　（全57頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2021-557190(P2021-557190)
(86)(22)出願日　令和2年3月25日(2020.3.25)
(65)公表番号　特表2022-526528(P2022-526528A)
(43)公表日　令和4年5月25日(2022.5.25)
(86)国際出願番号　PCT/EP2020/058395
(87)国際公開番号　WO2020/193644
(87)国際公開日　令和2年10月1日(2020.10.1)
審査請求日　令和5年3月23日(2023.3.23)
(31)優先権主張番号　62/823,785
(32)優先日　平成31年3月26日(2019.3.26)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)

(73)特許権者　397060175
ヤンセン ファーマシューティカ エヌ．ベー．
ベルギー国 ベー．－２３４０ ベルセトルンハウッサーヴェヒ ３０
(74)代理人　100092783
弁理士　小林 浩
(74)代理人　100095360
弁理士　片山 英二
(74)代理人　100093676
弁理士　小林 純子
(74)代理人　100120134
弁理士　大森 規雄
(74)代理人　100149010
弁理士　星川 亮

最終頁に続く

(54)【発明の名称】　ピログルタメートアミロイドーβに対する抗体及びその使用

(57)【特許請求の範囲】

【請求項１】

ａ．　それぞれ、配列番号１、２、３、４、５、及び６、

ｃ．　それぞれ、配列番号１、７、３、８、５、及び６、

ｅ．　それぞれ、配列番号５６、５７、３、８、５、及び６、又は

ｇ．　それぞれ、配列番号５６、５８、３、４、５、及び６のポリペプチド配列を有する、重鎖相補性決定領域１（ＨＣＤＲ１）、ＨＣＤＲ２、ＨＣＤＲ３、軽鎖相補性決定領域１（ＬＣＤＲ１）、ＬＣＤＲ２、及びＬＣＤＲ３を含む単離モノクローナル抗体又はその抗原結合断片であって、前記抗体又はその抗原結合断片は、３ｐＥ　Ａβに特異的に結合する、単離モノクローナル抗体又はその抗原結合断片。

【請求項２】

配列番号９、若しくは２１と少なくとも９５％同一のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、又は配列番号１０、１２、２２、５３、若しくは５５と少なくとも９５％同一のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域を含む、請求項１に記載の単離モノクローナル抗体又はその抗原結合断片。

【請求項３】

ａ．　配列番号２１のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域及び配列番号２２のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域、

ｂ．　配列番号９のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域及び配列番号１０のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域、

ｃ．　配列番号２１のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域及び配列番号５３のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域、又は
ｄ．　配列番号２１のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域及び配列番号５５のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域
を含む、請求項１に記載の単離モノクローナル抗体又はその抗原結合断片。
【請求項４】
前記抗体又はその抗原結合断片はキメラである、請求項１～３のいずれか一項に記載の単離モノクローナル抗体又はその抗原結合断片。
【請求項５】
前記抗体又はその抗原結合断片はヒトである又はヒト化されている、請求項１～４のいずれか一項に記載の単離モノクローナル抗体又はその抗原結合断片。
【請求項６】
前記抗体又はその抗原結合断片は、ヒト３ｐＥ　Ａβに特異的に結合する、請求項１～５のいずれか一項に記載の単離モノクローナル抗体又はその抗原結合断片。
【請求項７】
ａ．　配列番号３７を含む重鎖アミノ酸配列及び配列番号３８を含む軽鎖アミノ酸配列、
ｂ．　配列番号３９を含む重鎖アミノ酸配列及び配列番号３８を含む軽鎖アミノ酸配列、
ｃ．　配列番号３７を含む重鎖アミノ酸配列及び配列番号５２を含む軽鎖アミノ酸配列、又は
ｄ．　配列番号３９を含む重鎖アミノ酸配列及び配列番号５４を含む軽鎖アミノ酸配列
を含む単離モノクローナル抗体であって、
３ｐＥ　Ａβに特異的に結合する、単離モノクローナル抗体。
【請求項８】
請求項１～７のいずれか一項に記載のモノクローナル抗体又はその抗原結合断片をコードしている単離核酸。
【請求項９】
請求項８に記載の単離核酸を含むベクター。
【請求項１０】
請求項９に記載のベクターを含む宿主細胞。
【請求項１１】
請求項１～７のいずれか一項に記載のモノクローナル抗体又はその抗原結合断片と、医薬的に許容される担体と、を含む、医薬組成物。
【請求項１２】
それを必要とする対象においてβ－アミロイドタンパク質を含有するプラークの形成に関連する状態を治療する方法において使用するための医薬組成物であって、
前記医薬組成物は、請求項１～７のいずれか一項に記載のモノクローナル抗体若しくはその抗原結合断片を含み、
前記方法は、前記モノクローナル抗体若しくはその抗原結合断片を、前記必要とする対象に投与することを含む、医薬組成物。
【請求項１３】
前記状態はアルツハイマー病である、請求項１２に記載の医薬組成物。
【請求項１４】
前記状態は、トリソミー２１（ダウン症候群）に関連する認知症、びまん性レビー小体病、封入体筋炎、脳アミロイド血管症、及びオランダ型アミロイドーシスを伴う遺伝性脳出血（ＨＣＨＷＡ－Ｄ）からなる群から選択される、請求項１２に記載の医薬組成物。
【請求項１５】
それを必要とする対象においてアルツハイマー病に関連するプラークを減少させる方法において使用するための医薬組成物であって、
前記医薬組成物は、請求項１～７のいずれか一項に記載のモノクローナル抗体若しくはその抗原結合断片を含み、

前記方法は、前記モノクローナル抗体若しくはその抗原結合断片を、前記必要とする対象に投与することを含む、医薬組成物。
【請求項１６】
それを必要とする対象において３ｐＥ　Ａβのシーディング活性を防止する方法において使用するための医薬組成物であって、
前記医薬組成物は、請求項１～７のいずれか一項に記載のモノクローナル抗体若しくはその抗原結合断片を含み、
前記方法は、前記モノクローナル抗体若しくはその抗原結合断片を、前記必要とする対象に投与することを含む、医薬組成物。
【請求項１７】
請求項１～７のいずれか一項に記載のモノクローナル抗体又はその抗原結合断片を生成するインビトロ方法であって、前記モノクローナル抗体又はその抗原結合断片を生成する条件下で、前記モノクローナル抗体又はその抗原結合断片をコードしている核酸を含む細胞を培養することと、前記抗体又はその抗原結合断片を回収することと、を含む、インビトロ方法。
【請求項１８】
請求項１～７のいずれか一項に記載のモノクローナル抗体又はその抗原結合断片を含む医薬組成物を製造する方法であって、前記方法は、前記モノクローナル抗体又はその抗原結合断片を医薬的に許容される担体と組み合わせて、前記医薬組成物を得ることを含む、方法。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
本発明は、アミロイド－β（Ａβ）ペプチドに対する抗体及びその抗体を使用した治療方法の分野に関する。具体的には、抗体は、アミロイド関連障害を同定及び治療するために使用され得る。
【０００２】
（電子的に提出された配列表の参照）
本出願は、ファイル名「ＪＡＢ７０１３ＵＳＰＳＰ配列表」及び２０１９年３月１１日の作成日で、ＡＳＣＩＩ形式の配列表としてＥＦＳ－Ｗｅｂを介して電子的に提出され、７６ｋｂのサイズを有する配列表を含む。ＥＦＳ－Ｗｅｂを介して提出された配列表は、本明細書の一部であり、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。
【背景技術】
【０００３】
アルツハイマー病（Alzheimer's disease、ＡＤ）は、徐々に激しい精神機能低下を導き、最終的には死に至らしめる、記憶、認知、論理的思考、判断力、及び情緒的安定性の進行性喪失を臨床的特徴とする、退行性脳障害である。アルツハイマー病は、高齢者における進行性の精神障害（認知症）の一般的な原因である。アルツハイマー病は世界中で確認されており、主要な公衆衛生問題を表す。この疾患は、現在、米国だけで５００万人を超える個体が罹患していると推定されている。現在のところ、それは不治であり、いかなる治療もＡＤを効果的に防止しない、又はその症状若しくは経過を逆転させない。
【０００４】
ＡＤの個体の脳は、アミロイド斑、アミロイド血管症（血管におけるアミロイド沈着）及び神経原線維変化と呼ばれる特徴的な病変を呈する。これら病変の大多数、特にアミロイド斑及び神経原線維変化は、一般に、記憶及び認知機能に重要な脳のいくつかの領域に見られる。アミロイド斑及びアミロイド血管症はまた、トリソミー２１（ダウン症候群）、びまん性レビー小体病及びオランダ型アミロイドーシスを伴う遺伝性脳出血（ＨＣＨＷＡ－Ｄ）の個体の脳を特徴付ける。
【０００５】
アミロイド斑の主要な構成成分は、β－アミロイド前駆体タンパク質（amyloid precu

rsor protein、ＡＰＰ）の切断によって産生される様々なアミロイドーβ（amyloid-beta、Ａβ）ペプチドである。脳におけるＡβペプチドの付着は、ＡＤをもたらす疾患カスケードにおける早期のかつ必要な工程であると仮定されている。Ａβ産生の変化をもたらし、家族性早発型ＡＤを引き起こす、アミロイド前駆体タンパク質及びプレセニリン遺伝子における変異の同定は、アミロイド代謝の変化がこの疾患の根底にある病原性過程の中心的な事象であるという強力な証拠を提供する。

【０００６】

第３残基がピログルタメートを有するアミロイドーβペプチド（３ｐＥ　Ａβ）は、ＡＤ患者の脳に蓄積した主要な種である。３ｐＥ　Ａβは、ＡＤにおけるほぼ全てのびまん性プラーク及び成熟プラークに存在し、代謝的に安定であり、プラークシーディング（plaque seeding）及び安定化の両方において役割を果たし得る（Ｃｙｎｉｓ　ｅｔ　ａｌ．，Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｎｅｕｒｏｄｅｇｅｎｅｒａｔｉｏｎ，２０１６；１１：４８）。検出可能な量の３ｐＥ　Ａβは、ＣＳＦ又は血漿中で報告されていないので、標的ペプチドが病理学特異的であることを示唆している（ＤｅＭａｔｔｏｓ　ｅｔ　ａｌ．，Ｎｅｕｒｏｎ，２０１２；７６：１－１３）。３ｐＥ　Ａβに選択的に結合する抗体は、免疫療法に有用であり得る。

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【０００７】

具体化され十分に記載されたとおり、本発明は、第３残基がピログルタメートを有するアミロイドーβ（３ｐＥ　Ａβ）に結合する抗体及びその抗原結合断片、３ｐＥ　Ａβに結合する抗体又はその抗原結合断片を生成する方法、そのような抗体又はその抗原結合断片を使用したアッセイ方法、並びにアルツハイマー病及び他のβ－アミロイド関連疾患の少なくとも１つの病状又は症状を治療、その発症を遅延させる、又はそれを回復させるための薬剤の製造のための、本発明の抗体又はその抗原結合断片の使用に関する。本発明の抗体は、３ｐＥを含有しないＡβペプチドよりも３ｐＥを含有するＡβペプチドに優先的に結合する。

【０００８】

特定の実施形態では、

ａ．　それぞれ、配列番号１、２、３、４、５、及び６、
ｂ．　それぞれ、配列番号１、７、３、４、５、及び６、
ｃ．　それぞれ、配列番号１、７、３、８、５、及び６、
ｄ．　それぞれ、配列番号１、２、３、８、５、及び６、
ｅ．　それぞれ、配列番号５６、５７、３、８、５、及び６、
ｆ．　それぞれ、配列番号５６、５７、３、４、５、及び６、
ｇ．　それぞれ、配列番号５６、５８、３、４、５、及び６、
ｈ．　それぞれ、配列番号５６、７、３、８、５、及び６、
ｉ．　それぞれ、配列番号１、５７、３、８、５、及び６、
ｊ．　それぞれ、配列番号５６、７、３、４、５、及び６、
ｋ．　それぞれ、配列番号１、５７、３、４、５、及び６、
ｌ．　それぞれ、配列番号１、５８、３、４、５、及び６、又は
ｍ．　それぞれ、配列番号５６、２、３、４、５、及び６のポリペプチド配列を有する、重相補性決定領域１（heavy complementarity determining region、ＨＣＤＲ１）、ＨＣＤＲ２、ＨＣＤＲ３、軽鎖相補性決定領域１（light chain complementarity determining region、ＬＣＤＲ１）、ＬＣＤＲ２、及びＬＣＤＲ３を含む単離モノクローナル抗体又はその抗原結合断片であって、抗体又はその抗原結合断片は、３ｐＥ　Ａβ、好ましくはヒト３ｐＥ　Ａβに特異的に結合する、単離モノクローナル抗体又はその抗原結合断片が本明細書において記載される。

【０００９】

特定の実施形態では、単離モノクローナル抗体又はその抗原結合断片は、配列番号９、

１１、１３、１５、１６、１７、１９、２０、若しくは２１と少なくとも９５％同一のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、又は配列番号１０、１２、１４、１８、２２、５３、若しくは５５と少なくとも９５％同一のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域を含む。

【００１０】

特定の実施形態では、単離モノクローナル抗体又はその抗原結合断片は、

ａ．　配列番号２１のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域及び配列番号２２のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域、

ｂ．　配列番号９のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域及び配列番号１０のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域、

ｃ．　配列番号１１のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域及び配列番号１２のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域、

ｄ．　配列番号１３のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域及び配列番号１４のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域、

ｅ．　配列番号１５のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域及び配列番号１４のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域、

ｆ．　配列番号１６のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域及び配列番号１４のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域、

ｇ．　配列番号２０のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域及び配列番号１４のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域、

ｈ．　配列番号１７のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域及び配列番号１８のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域、

ｉ．　配列番号１９のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域及び配列番号１８のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域、

ｊ．　配列番号２１のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域及び配列番号５３のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域、又は

ｋ．　配列番号２１のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域及び配列番号５５のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域を含む。

【００１１】

特定の実施形態では、単離モノクローナル抗体又はその抗原結合断片はキメラである。特定の実施形態では、単離モノクローナル抗体又はその抗原結合断片はヒトである又はヒト化されている。

【００１２】

特定の実施形態では、単離モノクローナル抗体は、

ａ．　配列番号３７の重鎖アミノ酸配列及び配列番号３８の軽鎖アミノ酸配列、

ｂ．　配列番号３９を含む重鎖アミノ酸配列及び配列番号３８を含む軽鎖アミノ酸配列、

ｃ．　配列番号３７の重鎖アミノ酸配列及び配列番号５２の軽鎖アミノ酸配列、又は

ｄ．　配列番号３９を含む重鎖アミノ酸配列及び配列番号５４を含む軽鎖アミノ酸配列

を含む。

【００１３】

特定の実施形態では、抗原結合断片は、Ｆｖ、Ｆ（ａｂ’）、Ｆ（ａｂ’）２、及びｓｃＦｖからなる断片の群から選択される。抗体又はその抗原結合断片は、３ｐＥ　Ａβペプチド（例えば、Ａβ３ｐＥ－４０及びＡβ３ｐＥ－４２）に選択的に結合し、他のＡβペプチド又はβ－アミロイド前駆体タンパク質（ＡＰＰ）に対する交差反応性がほとんどないか、又は全くない。

【００１４】

本明細書に開示されたモノクローナル抗体又はその抗原結合断片をコードしている単離核酸もまた提供される。

【００１５】

本発明のモノクローナル抗体又はその抗原結合断片をコードしている単離核酸を含むベ

クターもまた提供される。
【００１６】
本発明のモノクローナル抗体又はその抗原結合断片をコードしている単離核酸を含むベクターを含む宿主細胞もまた提供される。また、本発明の単離モノクローナル抗体又はその抗原結合断片を生成するハイブリドーマもまた提供される。
【００１７】
特定の実施形態では、本発明の単離モノクローナル抗体又はその抗原結合断片と、医薬的に許容される担体と、を含む、医薬組成物が提供される。
【００１８】
それを必要とする対象においてβ－アミロイドタンパク質を含有するプラークの形成に関連する状態を治療する方法もまた提供される。方法は、本発明のモノクローナル抗体若しくはその抗原結合断片、又は本発明の医薬組成物を、必要とする対象に投与することを含む。特定の実施形態において、状態はアルツハイマー病である。特定の実施形態において、状態は、トリソミー２１（ダウン症候群）に関連する認知症、びまん性レビー小体病、封入体筋炎、脳アミロイド血管症、及びオランダ型アミロイドーシスを伴う遺伝性脳出血（ＨＣＨＷＡ－Ｄ）からなる群から選択される。
【００１９】
それを必要とする対象においてアルツハイマー病に関連するプラークを減少させる方法もまた提供される。方法は、本発明のモノクローナル抗体若しくはその抗原結合断片、又は本発明の医薬組成物を、それを必要とする対象に投与することを含む。
【００２０】
それを必要とする対象において３ｐＥ　Ａβのシーディング活性を防止する方法もまた提供される。方法は、本発明のモノクローナル抗体若しくはその抗原結合断片、又は本発明の医薬組成物を、それを必要とする対象に投与することを含む。
【００２１】
本発明のモノクローナル抗体又はその抗原結合断片を生成する方法であって、方法は、モノクローナル抗体又はその抗原結合断片を生成する条件下で、モノクローナル抗体又はその抗原結合断片をコードしている核酸を含む細胞を培養することと、抗体又はその抗原結合断片を回収することと、を含む、方法もまた提供される。
【００２２】
本発明の医薬組成物を製造する方法もまた提供される。方法は、本発明のモノクローナル抗体又はその抗原結合断片を医薬的に許容される担体と組み合わせて、医薬組成物を得ることを含む。
【００２３】
一実施形態は、上記の抗体又はその抗原結合断片を含むキット及びデバイスを含む。
【００２４】
本発明の更なる目的、特徴及び利点が、以下の好ましい実施形態の詳細な考察から、当業者に明白となるであろう。
【図面の簡単な説明】
【００２５】
【図１】ヒトＡβ（３ｐＥ－４０）ペプチドに対するＢＡＭＢ３１＿２ａ（ｍＩｇＧ２ａ）の親和性結合相互作用の、表面プラズモン共鳴標識を含まない検出によるセンサグラム（シングルサイクル動態）である。グレー色の軌跡は、二重参照減算データを表す一方、黒色の軌跡は、フィッティングされた値を表す。
【図２】ヒトＡβ（３ｐＥ－４０）ペプチドに対するｍＥ８ｃ　ｍＩｇＧ２ａの親和性結合相互作用の、表面プラズモン共鳴標識を含まない検出によるセンサグラム（シングルサイクル動態）である。グレー色の軌跡は、二重参照減算データを表す一方、黒色の軌跡は、フィッティングされた値を表す。
【図３Ａ】ＢＡＭＢ６７４及びＢＡＭＢ６７５対比較基準であるＨＦＡ分子についての、ホルマリン固定、パラフィン包埋（ｆｏｒｍａｌｉｎ－ｆｉｘｅｄ、ｐａｒａｆｆｉｎ－

ｅｍｂｅｄｄｅｄ、ＦＦＰＥ）されたトランスジェニックマウスの脳組織における免疫組織化学法により分析された際のプラークに対する反応性を示す図である。
【図３Ｂ】ＢＡＭＢ６７４及びＢＡＭＢ６７５対比較基準であるＨＦＡ分子についての、ホルマリン固定、パラフィン包埋（ＦＦＰＥ）されたトランスジェニックマウスの脳組織における免疫組織化学法により分析された際のプラークに対する反応性を示す図である。
【図３Ｃ】ＢＡＭＢ６７４及びＢＡＭＢ６７５対比較基準であるＨＦＡ分子についての、ホルマリン固定、パラフィン包埋（ＦＦＰＥ）されたトランスジェニックマウスの脳組織における免疫組織化学法により分析された際のプラークに対する反応性を示す図である。
【図３Ｄ】ＢＡＭＢ６７４及びＢＡＭＢ６７５対比較基準であるＨＦＡ分子についての、ホルマリン固定、パラフィン包埋（ＦＦＰＥ）されたトランスジェニックマウスの脳組織における免疫組織化学法により分析された際のプラークに対する反応性を示す図である。
【図３Ｅ】ＢＡＭＢ６７４及びＢＡＭＢ６７５対比較基準であるＨＦＡ分子についての、ホルマリン固定、パラフィン包埋（ＦＦＰＥ）されたトランスジェニックマウスの脳組織における免疫組織化学法により分析された際のプラークに対する反応性を示す図である。
【図３Ｆ】ＢＡＭＢ６７４及びＢＡＭＢ６７５対比較基準であるＨＦＡ分子についての、ホルマリン固定、パラフィン包埋（ＦＦＰＥ）されたトランスジェニックマウスの脳組織における免疫組織化学法により分析された際のプラークに対する反応性を示す図である。
【図３Ｇ】ＢＡＭＢ６７４及びＢＡＭＢ６７５対比較基準であるＨＦＡ分子についての、ホルマリン固定、パラフィン包埋（ＦＦＰＥ）されたトランスジェニックマウスの脳組織における免疫組織化学法により分析された際のプラークに対する反応性を示す図である。
【図３Ｈ】ＢＡＭＢ６７４及びＢＡＭＢ６７５対比較基準であるＨＦＡ分子についての、ホルマリン固定、パラフィン包埋（ＦＦＰＥ）されたトランスジェニックマウスの脳組織における免疫組織化学法により分析された際のプラークに対する反応性を示す図である。
【図３Ｉ】ＢＡＭＢ６７４及びＢＡＭＢ６７５対比較基準であるＨＦＡ分子についての、ホルマリン固定、パラフィン包埋（ＦＦＰＥ）されたトランスジェニックマウスの脳組織における免疫組織化学法により分析された際のプラークに対する反応性を示す図である。一次抗体濃度０．０５μｇ／ｍＬの結果を示している。矢印はＢＡＭＢ６７４及びＢＡＭＢ６７５のプラーク標識の領域を示す。（Ａ）ＢＡＭＢ６７４、（Ｂ）ＢＡＭ６７５、（Ｃ）抗体Ｉ、（Ｄ）抗体ＩＩ、（Ｅ）Ｂ１２Ｌ、（Ｆ）ＣＩ－Ｃ７、（Ｇ）ｈＥ８Ｌ、（Ｈ）Ｒ１７Ｌ、（Ｉ）Ｒ１７。
【図４Ａ】サンドイッチＥＬＩＳＡにおける合成ヒトＡβペプチドの検出によって示される際のＢＡＭＢ３１＿１選択性を示すグラフである。
【図４Ｂ】サンドイッチＥＬＩＳＡにおける合成ヒトＡβペプチドの検出によって示される際のＢＡＭＢ３１＿１選択性を示すグラフである。（Ａ）Ａβ１－４０　（Ｂ）ＡβｐＥ１１－４０。
【図５Ａ】ＢＡＭＢ２４６（ｈｕＩｇＧ１キメラ）についての、ホルマリン固定、パラフィン包埋（ＦＦＰＥ）されたトランスジェニックマウスの脳組織における免疫組織化学法によるプラークに対する反応性を示す図である。
【図５Ｂ】ＢＡＭＢ２４６（ｈｕＩｇＧ１キメラ）についての、ホルマリン固定、パラフィン包埋（ＦＦＰＥ）されたトランスジェニックマウスの脳組織における免疫組織化学法によるプラークに対する反応性を示す図である。
【図５Ｃ】ＢＡＭＢ６７４についての、ホルマリン固定、パラフィン包埋（ＦＦＰＥ）されたトランスジェニックマウスの脳組織における免疫組織化学法によるプラークに対する反応性を示す図である。
【図５Ｄ】ＢＡＭＢ６７４についての、ホルマリン固定、パラフィン包埋（ＦＦＰＥ）されたトランスジェニックマウスの脳組織における免疫組織化学法によるプラークに対する反応性を示す図である。
【図５Ｅ】ＢＡＭＢ６７５についての、ホルマリン固定、パラフィン包埋（ＦＦＰＥ）されたトランスジェニックマウスの脳組織における免疫組織化学法によるプラークに対する反応性を示す図である。

【図５Ｆ】ＢＡＭＢ６７５についての、ホルマリン固定、パラフィン包埋（ＦＦＰＥ）されたトランスジェニックマウスの脳組織における免疫組織化学法によるプラークに対する反応性を示す図である。小さい挿入パネルは、染色された脳の切片全体及び拡大領域を示す。
【図６Ａ】２つの異なる倍率での、４Ｇ８を用いた、凍結保存されたＡＤ脳組織における免疫組織化学法によるプラークに対する反応性を示す図である。
【図６Ｂ】２つの異なる倍率での、ＢＡＭＢ３１＿２ａ（ｍＩｇＧ２ａ）を用いた、凍結保存されたＡＤ脳組織における免疫組織化学法によるプラークに対する反応性を示す図である。
【図６Ｃ】２つの異なる倍率での、４Ｇ８を用いた、凍結保存されたＡＤ脳組織における免疫組織化学法によるプラークに対する反応性を示す図である。
【図６Ｄ】２つの異なる倍率での、ＢＡＭＢ３１＿２ａ（ｍＩｇＧ２ａ）を用いた、凍結保存されたＡＤ脳組織における免疫組織化学法によるプラークに対する反応性を示す図である。
【図７】トランスジェニックマウスにおける１回の２０ｍｇ／ｋｇの腹腔内（intraperitoneal、ｉ．ｐ．）投与後の異なる時点での血清抗体濃度を示すグラフである。
【図８】ＰＤＡＰＰマウスにおけるアイソタイプ対照及びＢＡＭＢ３１＿２ａ（ｍＩｇＧ２ａ）抗体による長期的治療後の、Ｐｅｒｌ陽性細胞の数の評価による微小出血を示すグラフである。
【図９】Ａβ１Ｘを検出するイムノアッセイによって測定された、アイソタイプ対照及びＰＤＡＰＰマウスの海馬におけるＢＡＭＢ３１＿２ａ（ｍＩｇＧ２ａ）抗体による長期的治療後のアミロイド負荷を示すグラフである。グレーの値は、アッセイの検出限界未満のデータ点を表す。
【図１０】ＢＡＭＢ６７４及びＢＡＭＢ６７５のサルＰＫ特性評価のための２コンパートメントモデルの概略図である。
【図１１】ＢＡＭＢ６７４及びＢＡＭＢ６７５のＰＫ対観察データを示すグラフである。カニクイザルにおける２５ｍｇ／ｋｇの静脈内（intravenous、ｉ．ｖ．）ボーラス投与後の、＋ＹＴＥ　ＩｇＧ１（ＹＴＥ血清）アイソタイプ及び野性型ＩｇＧ１（ＷＴ血清）としてのＢＡＭ３１　ＨＦＡ　ｍＡｂの血中濃度。抗－Ａβ　３ｐＥ抗体（３ｐＥ－ＡＢ）μｇ／ｍＬ濃度をＸ軸上の日数において経時的にＹ軸上の対数スケールで示す。各ｍＡｂについて計算された半減期（ｔ１／２）は、挿入テキスト上に示される。
【図１２】ＢＡＭＢ６７４及びＢＡＭＢ６７５について観察された脳内濃度を示すグラフである。カニクイザルにおける２５ｍｇ／ｋｇのｉ．ｖ．ボーラス投与後の、＋ＹＴＥ　ＩｇＧ１（ＹＴＥ脳）アイソタイプ及び野性型ＩｇＧ１（ＷＴ脳）としてのＢＡＭＢ３１　ＨＦＡ　ｍＡｂの７日目及び４２日目の脳溶解物レベル。抗－Ａβ　３ｐＥ抗体（３ｐＥ－ＡＢ）μｇ／ｍＬ濃度をＸ軸上の日数において経時的にＹ軸上の対数スケールで示す。
【発明を実施するための形態】
【００２６】
背景技術において、また、本明細書全体を通じて各種刊行物、論文及び特許を引用又は記載する。これら参照文献の各々はその全容が参照により本明細書に組み込まれる。本明細書に含まれる文書、操作、材料、デバイス、物品などの考察は、本発明のコンテキストを与えるためのものである。かかる考察は、これらの事物のいずれか又は全てが、開示又は特許請求されるいずれかの発明に対する先行技術の一部を構成することを容認するものではない。
【００２７】
本発明は、特定の方法、試薬、化合物、組成物、又は生物学的システムに限定されるものではなく、これらは変更可能であることを理解すべきである。また、本明細書で使用される用語は、具体的な実施形態の説明のみを目的としており、何らかの制限を意図するものではないことも理解されたい。
【００２８】

特に規定のない限り、本明細書で使用される全ての技術用語及び科学用語は、本発明が属する技術分野の当業者に一般的に理解されるのと同じ意味を有する。そうでない場合、本明細書で使用される特定の用語は、本明細書に記載される意味を有するものである。

【００２９】

本明細書及び添付の特許請求の範囲で使用されるとき、単数形「ａ」、「ａｎ」及び「ｔｈｅ」は、特に文脈上明らかでない限り、複数の指示対象物を含むことに留意する必要がある。

【００３０】

別途記載のない限り、一連の要素に先行する「少なくとも」という用語は、一連の全ての要素を指すと理解されるべきである。当業者であれば、単なる通常の実験手順を使用するだけで、本明細書に記載した特定の実施形態に対して多くの同等物を認識するか、又は確認することができよう。このような等価物は、本発明によって包含されることが意図される。

【００３１】

本明細書で使用するとき、用語「備える（comprises）、「備える（comprising）」、「含む（includes）」、「含む（including）」、「有する（has）」、「有する（having）」、「含有する（contains）」、又は「含有する（containing）」あるいはこれらの任意の他の変形形態は、述べられている整数又は整数群を含むことが意図されるが、これら以外の他の整数又は整数群を除外するものではなく、非排他的又は非制限的であることが意図されることが理解されよう。例えば、一連の要素を含む組成物、混合物、プロセス、方法、物品、又は装置は、必ずしもそれらの要素のみに限定されるものではなく、明示的に列挙されない、又はそのような組成物、混合物、プロセス、方法、物品、又は装置に本来存在しない他の要素を含んでもよい。更に、明示的に反対に明記されない限り、「又は」は包括的な「又は」を指すものであり、排他的な「又は」を指すものではない。例えば、条件Ａ又はＢは、Ａが真であり（又は存在する）かつＢが偽である（又は存在しない）場合、Ａが偽であり（又は存在しない）かつＢが真である（又は存在する）場合、並びにＡ及びＢの両方が真である（又は存在する）場合、のいずれか１つによって充足される。

【００３２】

本明細書で使用するとき、複数の列挙された要素間の接続的な用語「及び／又は」は、個々の及び組み合わされた選択肢の両方を包含するものとして理解される。例えば、２つの要素が「及び／又は」によって接続される場合、第１の選択肢は、第２の要素なしに第１の要素が適用可能であることを指す。第２の選択肢は、第１の要素なしに第２の要素が適用可能であることを指す。第３の選択肢は、第１及び第２の要素が一緒に適用可能であることを指す。これらの選択肢のうちのいずれか１つは、意味に含まれ、したがって、本明細書で使用されるとき、用語「及び／又は」の要件を満たすことが理解される。選択肢のうちの２つ以上の同時適用性もまた、意味に含まれ、したがって、用語「及び／又は」の要件を満たすことが理解される。

【００３３】

本明細書で使用するとき、用語「からなる（consists of）」又は「からなる（consist of）」若しくは「からなる（consisting of）」などの変形は、明細書及び特許請求の範囲全体にわたって使用するとき、任意の列挙された整数又は整数群を包含するが、追加の整数又は整数群が、指定の方法、構造、又は組成物に追加されることはないことを示す。

【００３４】

本明細書で使用するとき、用語「から本質的になる（consists essentially of）」又は「から本質的になる（consist essentially of）」若しくは「から本質的になる（consisting essentially of）」などの変形は、明細書及び特許請求の範囲全体にわたって使用するとき、任意の列挙された整数又は整数群を包含し、任意選択で、指定の方法、構造、又は組成物の基本的又は新規の特性を実質的に変化させない任意の列挙された整数又は整数群も包含することを示す。Ｍ．Ｐ．Ｅ．Ｐ．§２１１１．０３を参照されたい。

【００３５】
抗体
本発明は、３ｐＥを含有しないＡβペプチドよりも３ｐＥ　Ａβペプチドに特に優先的に結合する抗体又はその抗原結合断片を提供する。３ｐＥ　Ａβペプチドに結合する抗体又はその抗原結合断片を生成する方法、及び３ｐＥ　Ａβペプチドに結合する抗体又はその抗原結合断片を産生するハイブリドーマを生成する方法を更に提供する。本発明はまた、個体におけるアルツハイマー病及び他のβ－アミロイド関連疾患を治療する方法、アルツハイマー病又は他のβ－アミロイド関連疾患に関連するプラークを除去する方法、及び３ｐＥ　Ａβのプラークシーディング活性を阻害する方法を含む。本発明はまた、記載される方法で使用するための抗体又はその抗原結合断片を含むキット及びデバイスを提供する。

【００３６】
特定の実施形態によれば、本発明は、
ａ．　それぞれ、配列番号１、２、３、４、５、及び６、
ｂ．　それぞれ、配列番号１、７、３、４、５、及び６、
ｃ．　それぞれ、配列番号１、７、３、８、５、及び６、
ｄ．　それぞれ、配列番号１、２、３、８、５、及び６、
ｅ．　それぞれ、配列番号５６、５７、３、８、５、及び６、
ｆ．　それぞれ、配列番号５６、５７、３、４、５、及び６、
ｇ．　それぞれ、配列番号５６、５８、３、４、５、及び６、
ｈ．　それぞれ、配列番号５６、７、３、８、５、及び６、
ｉ．　それぞれ、配列番号１、５７、３、８、５、及び６、
ｊ．　それぞれ、配列番号５６、７、３、４、５、及び６、
ｋ．　それぞれ、配列番号１、５７、３、４、５、及び６、
ｌ．　それぞれ、配列番号１、５８、３、４、５、及び６、又は
ｍ．　それぞれ、配列番号５６、２、３、４、５、及び６のポリペプチド配列を有する、重相補性決定領域１（ＨＣＤＲ１）、ＨＣＤＲ２、ＨＣＤＲ３、軽鎖相補性決定領域１（ＬＣＤＲ１）、ＬＣＤＲ２、及びＬＣＤＲ３を含む単離モノクローナル抗体又はその抗原結合断片であって、抗体又はその抗原結合断片は、３ｐＥ　Ａβ、好ましくはヒト３ｐＥ Ａβに特異的に結合する、単離モノクローナル抗体又はその抗原結合断片に関する。

【００３７】
別の特定の態様によれば、本発明は、配列番号９、１１、１３、１５、１６、１７、１９、２０、若しくは２１と少なくとも９５％同一のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、又は配列番号１０、１２、１４、１８、２２、５３、若しくは５５と少なくとも９５％同一のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域を含む単離モノクローナル抗体又はその抗原結合断片に関する。

【００３８】
別の特定の態様によれば、本発明は、
ｌ．　配列番号２１のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域及び配列番号２２のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域、
ｍ．　配列番号９のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域及び配列番号１０のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域、
ｎ．　配列番号１１のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域及び配列番号１２のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域、
ｏ．　配列番号１３のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域及び配列番号１４のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域、
ｐ．　配列番号１５のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域及び配列番号１４のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域、
ｑ．　配列番号１６のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域及び配列番号１４のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域、

ｒ．　配列番号２０のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域及び配列番号１４のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域、
ｓ．　配列番号１７のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域及び配列番号１８のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域、
ｔ．　配列番号１９のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域及び配列番号１８のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域、
ｕ．　配列番号２１のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域及び配列番号５３のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域、又は
ｖ．　配列番号２１のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域及び配列番号５５のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域を含む単離モノクローナル抗体又はその抗原結合断片に関する。

【００３９】
一実施形態では、本発明は、それぞれ配列番号１、２、３、４、５、及び６、又はそれぞれ配列番号５６、５８、３、４、５、及び６、又はそれぞれ配列番号５６、２、３、４、５、及び６、又はそれぞれ配列番号１、５８、３、４、５、及び６のポリペプチド配列有するＨＣＤＲ１、ＨＣＤＲ２、ＨＣＤＲ３、ＬＣＤＲ１、ＬＣＤＲ２、及びＬＣＤＲ３を含む、単離モノクローナル抗体又はその抗原結合断片に関する。別の実施形態では、単離モノクローナル抗体又はその抗原結合断片は、配列番号２１と少なくとも８５％、好ましくは９０％、より好ましくは９５％以上、例えば９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％同一のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号２２又は５３又は５５と少なくとも８５％、好ましくは９０％、より好ましくは９５％以上、例えば９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％同一のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域を含む。好ましくは、単離モノクローナル抗体又はその抗原結合断片は、配列番号２１のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域及び配列番号２２又は５３又は５５のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域を含む。

【００４０】
一実施形態では、本発明は、それぞれ配列番号１、２、３、４、５、及び６、又はそれぞれ配列番号５６、５８、３、４、５、及び６、又はそれぞれ配列番号５６、２、３、４、５、及び６、又はそれぞれ配列番号１、５８、３、４、５、及び６のポリペプチド配列有するＨＣＤＲ１、ＨＣＤＲ２、ＨＣＤＲ３、ＬＣＤＲ１、ＬＣＤＲ２、及びＬＣＤＲ３を含む、単離モノクローナル抗体又はその抗原結合断片に関する。別の実施形態では、単離モノクローナル抗体又はその抗原結合断片は、配列番号２０と少なくとも８５％、好ましくは９０％、より好ましくは９５％以上、例えば９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％同一のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号１４と少なくとも８５％、好ましくは９０％、より好ましくは９５％以上、例えば９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％同一のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域を含む。好ましくは、単離モノクローナル抗体又はその抗原結合断片は、配列番号２０のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域及び配列番号１４のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域を含む。

【００４１】
一実施形態では、本発明は、それぞれ配列番号１、７、３、４、５、及び６、又はそれぞれ配列番号５６、５７、３、４、５、及び６、又はそれぞれ配列番号５６、７、３、４、５、及び６、又はそれぞれ配列番号１、５７、３、８、５、及び６のポリペプチド配列を有するＨＣＤＲ１、ＨＣＤＲ２、ＨＣＤＲ３、ＬＣＤＲ１、ＬＣＤＲ２、及びＬＣＤＲ３を含む、単離モノクローナル抗体又はその抗原結合断片に関する。別の実施形態では、単離モノクローナル抗体又はその抗原結合断片は、配列番号１９と少なくとも８５％、好ましくは９０％、より好ましくは９５％以上、例えば９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％同一のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号１８と少なくとも８５％、好ましくは９０％、より好ましくは９５％以上、例えば９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％同一のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域を含む。好ましくは、単離モノクローナル抗体又はその抗原結合断片は、配列番号１９のポリペプチド配列

を有する重鎖可変領域及び配列番号１８のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域を含む。
【００４２】
一実施形態では、本発明は、それぞれ配列番号１、７、３、４、５、及び６、又はそれぞれ配列番号５６、５７、３、４、５、及び６、又はそれぞれ配列番号５６、７、３、４、５、及び６、又はそれぞれ配列番号１、５７、３、８、５、及び６のポリペプチド配列を有するＨＣＤＲ１、ＨＣＤＲ２、ＨＣＤＲ３、ＬＣＤＲ１、ＬＣＤＲ２、及びＬＣＤＲ３を含む、単離モノクローナル抗体又はその抗原結合断片に関する。別の実施形態では、単離モノクローナル抗体又はその抗原結合断片は、配列番号１７と少なくとも８５％、好ましくは９０％、より好ましくは９５％以上、例えば９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％同一のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号１８と少なくとも８５％、好ましくは９０％、より好ましくは９５％以上、例えば９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％同一のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域を含む。好ましくは、単離モノクローナル抗体又はその抗原結合断片は、配列番号１７のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域及び配列番号１８のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域を含む。
【００４３】
一実施形態では、本発明は、それぞれ配列番号１、７、３、４、５、及び６、又はそれぞれ配列番号５６、５７、３、４、５、及び６、又はそれぞれ配列番号５６、７、３、４、５、及び６、又はそれぞれ配列番号１、５７、３、８、５、及び６のポリペプチド配列有するＨＣＤＲ１、ＨＣＤＲ２、ＨＣＤＲ３、ＬＣＤＲ１、ＬＣＤＲ２、及びＬＣＤＲ３を含む、単離モノクローナル抗体又はその抗原結合断片に関する。別の実施形態では、単離モノクローナル抗体又はその抗原結合断片は、配列番号１６と少なくとも８５％、好ましくは９０％、より好ましくは９５％以上、例えば９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％同一のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号１４と少なくとも８５％、好ましくは９０％、より好ましくは９５％以上、例えば９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％同一のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域を含む。好ましくは、単離モノクローナル抗体又はその抗原結合断片は、配列番号１６のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域及び配列番号１４のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域を含む。
【００４４】
一実施形態では、本発明は、それぞれ配列番号１、７、３、４、５、及び６、又はそれぞれ配列番号５６、５７、３、４、５、及び６、又はそれぞれ配列番号５６、７、３、４、５、及び６、又はそれぞれ配列番号１、５７、３、８、５、及び６のポリペプチド配列を有するＨＣＤＲ１、ＨＣＤＲ２、ＨＣＤＲ３、ＬＣＤＲ１、ＬＣＤＲ２、及びＬＣＤＲ３を含む、単離モノクローナル抗体又はその抗原結合断片に関する。別の実施形態では、単離モノクローナル抗体又はその抗原結合断片は、配列番号１５と少なくとも８５％、好ましくは９０％、より好ましくは９５％以上、例えば９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％同一のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号１４と少なくとも８５％、好ましくは９０％、より好ましくは９５％以上、例えば９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％同一のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域を含む。好ましくは、単離モノクローナル抗体又はその抗原結合断片は、配列番号１５のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域及び配列番号１４のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域を含む。
【００４５】
一実施形態では、本発明は、それぞれ配列番号１、７、３、４、５、及び６、又はそれぞれ配列番号５６、５７、３、４、５、及び６、又はそれぞれ配列番号５６、７、３、４、５、及び６、又はそれぞれ配列番号１、５７、３、８、５、及び６のポリペプチド配列を有するＨＣＤＲ１、ＨＣＤＲ２、ＨＣＤＲ３、ＬＣＤＲ１、ＬＣＤＲ２、及びＬＣＤＲ３を含む、単離モノクローナル抗体又はその抗原結合断片に関する。別の実施形態では、単離モノクローナル抗体又はその抗原結合断片は、配列番号１３と少なくとも８５％、好ましくは９０％、より好ましくは９５％以上、例えば９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％同一のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号１４と少なくとも８５％、好ましくは９０％、より好ましくは９５％以上、例えば９５％、９６％、９７

％、９８％、又は９９％同一のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域を含む。好ましくは、単離モノクローナル抗体又はその抗原結合断片は、配列番号１３のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域及び配列番号１４のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域を含む。

【００４６】

一実施形態では、本発明は、それぞれ配列番号１、７、３、８、５、及び６、又はそれぞれ配列番号５６、５７、３、８、５、及び６、又はそれぞれ配列番号５６、７、３、８、５、及び６、又はそれぞれ配列番号１、５７、３、８、５、及び６のポリペプチド配列を有するＨＣＤＲ１、ＨＣＤＲ２、ＨＣＤＲ３、ＬＣＤＲ１、ＬＣＤＲ２、及びＬＣＤＲ３を含む、単離モノクローナル抗体又はその抗原結合断片に関する。別の実施形態では、単離モノクローナル抗体又はその抗原結合断片は、配列番号１１と少なくとも８５％、好ましくは９０％、より好ましくは９５％以上、例えば９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％同一のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号１２と少なくとも８５％、好ましくは９０％、より好ましくは９５％以上、例えば９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％同一のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域を含む。好ましくは、単離モノクローナル抗体又はその抗原結合断片は、配列番号１１のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域及び配列番号１２のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域を含む。

【００４７】

一実施形態では、本発明は、それぞれ配列番号１、７、３、８、５、及び６、又はそれぞれ配列番号５６、５７、３、８、５、及び６、又はそれぞれ配列番号５６、７、３、８、５、及び６、又はそれぞれ配列番号１、５７、３、８、５、及び６のポリペプチド配列を有するＨＣＤＲ１、ＨＣＤＲ２、ＨＣＤＲ３、ＬＣＤＲ１、ＬＣＤＲ２、及びＬＣＤＲ３を含む、単離モノクローナル抗体又はその抗原結合断片に関する。別の実施形態では、単離モノクローナル抗体又はその抗原結合断片は、配列番号９と少なくとも８５％、好ましくは９０％、より好ましくは９５％以上、例えば９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％同一のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、及び配列番号１０と少なくとも８５％、好ましくは９０％、より好ましくは９５％以上、例えば９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％同一のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域を含む。好ましくは、単離モノクローナル抗体又はその抗原結合断片は、配列番号９のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域及び配列番号１０のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域を含む。

【００４８】

別の特定の態様では、単離モノクローナル抗体は、

ａ．　配列番号３７を含む重鎖アミノ酸配列及び配列番号３８を含む軽鎖アミノ酸配列、

ｂ．　配列番号３９を含む重鎖アミノ酸配列及び配列番号３８を含む軽鎖アミノ酸配列、

ｃ．　配列番号３７を含む重鎖アミノ酸配列及び配列番号５２を含む軽鎖アミノ酸配列、又は

ｄ．　配列番号３９を含む重鎖アミノ酸配列及び配列番号５５を含む軽鎖アミノ酸配列

を含む。

【００４９】

別の特定の態様によれば、本発明は、本発明の単離モノクローナル抗体又はその抗原結合断片に関し、抗体又はその抗原結合断片はキメラである。

【００５０】

別の特定の態様によれば、本発明は、本発明の単離モノクローナル抗体又はその抗原結合断片に関し、抗体又はその抗原結合断片はヒト又はヒト化である。

【００５１】

別の特定の態様によれば、本発明は抗原結合断片に関し、抗原結合断片は、Ｆｖ、Ｆ（ａｂ’）、Ｆ（ａｂ’）２、及びｓｃＦｖからなる断片の群から選択される。抗体又はその抗原結合断片は、３ｐＥ　Ａβペプチド（例えば、Ａβ３ｐＥ－４０及びＡβ３ｐＥ－４２）に選択的に結合し、他のＡβペプチド又はβ－アミロイド前駆体タンパク質（ＡＰＰ）に対する交差反応性がほとんどないか、又は全くない。

【００５２】

別の全般的な態様では、本発明は、本発明のモノクローナル抗体又はその抗原結合断片をコードしている、単離核酸に関する。タンパク質のアミノ酸配列を変えることなく、タンパク質のコード配列を変える（例えば、置換する、欠失する、挿入するなど）ことができることが、当業者には理解されよう。したがって、タンパク質のアミノ酸配列を変化させることなく、本発明のモノクローナル抗体又はその抗原結合断片をコードしている核酸配列を変更できることが当業者には理解されるであろう。

【００５３】

別の全般的な態様では、本発明は、本発明のモノクローナル抗体又はその抗原結合断片をコードしている単離核酸を含む、ベクターに関する。プラスミド、コスミド、ファージベクター、又はウイルスベクターなどの、本開示の観点から当業者に公知の任意のベクターも使用することができる。いくつかの実施形態では、ベクターは、プラスミドなどの組換え発現ベクターである。ベクターは、例えば、プロモータ、リボソーム結合エレメント、ターミネータ、エンハンサ、選択マーカー、及び複製起点という、発現ベクターの従来の機能を確立するための任意のエレメントを含むことができる。プロモータは、常時発現型、誘導型、又は再形成可能なプロモータであり得る。細胞に核酸を送達することができる多数の発現ベクターが当技術分野において知られており、細胞内で抗体又はその抗原結合断片を生成するために、本明細書で使用することができる。従来のクローニング技術、又は人工遺伝子合成を使用して、本発明の実施形態に従った組換え発現ベクターを生成することができる。

【００５４】

別の一般的な態様において、本発明は、本発明のモノクローナル抗体又はその抗原結合断片をコードする単離核酸を含む宿主細胞に関する。本開示の観点から、当業者に知られている任意の宿主細胞を、本発明の抗体又はその抗原結合断片の組換え発現に使用することができる。いくつかの実施形態では、宿主細胞は、大腸菌ＴＧ１若しくはＢＬ２１細胞（例えば、ｓｃＦｖ又はＦａｂ抗体の発現の場合）、ＣＨＯ－ＤＧ４４若しくはＣＨＯ－Ｋ１細胞、又はＨＥＫ２９３細胞（例えば、完全長ＩｇＧ抗体の発現の場合）である。特定の実施形態によれば、組換え発現ベクターは、組換え核酸が効果的に発現するように宿主細胞ゲノムに安定的に組み込まれる、化学的トランスフェクション、熱ショック、又はエレクトロポレーションなどの従来の方法によって宿主細胞に形質転換される。

【００５５】

別の全般的な態様では、本発明は、本発明のモノクローナル抗体又はその抗原結合断片を生成する方法であって、本発明のモノクローナル抗体又はその抗原結合断片を生成する条件下で、当該モノクローナル抗体又はその抗原結合断片をコードしている核酸を含む細胞を培養することと、当該細胞又は細胞培養物から（例えば上清から）当該抗体又はその抗原結合断片を回収することと、を含む、方法に関する。発現した抗体又はその抗原結合断片を細胞から収集し、当該技術分野において公知の従来の技術に従って、そして、本明細書に記載のとおり精製することができる。

【００５６】

本発明は、３ｐＥ　Ａβに結合する単離された抗体又はその抗原結合断片を提供する。本明細書において、用語「抗体」は、抗原又はその一部に結合することができる免疫グロブリンタンパク質、特に３ｐＥ　Ａβに特異的に結合することができる免疫グロブリンタンパク質を指す。抗原への抗体の結合は、当業者に既知の方法によって測定することができ、一例として、ＢＩＡｃｏｒｅ（商標）器具の使用がある。一般的に言えば、抗体又は抗原結合抗体断片は、解離定数が１μＭ以下、好ましくは１００ｎＭ以下、最も好ましくは１０ｎＭ以下であるとき、抗原に特異的に結合すると言われている。

【００５７】

抗体の抗原結合断片は、無傷の抗体が結合する抗原に結合することができ、抗原結合に関して無傷の抗体と競合する、抗体の断片を指す。抗原結合断片は、抗原結合を可能にする無傷の抗体の一部分（すなわち、無傷の抗体の可変領域）を含む。抗原結合断片としては、限定するものではないが、Ｆａｂ、Ｆａｂ’、Ｆ（ａｂ’）$_2$、Ｆｖ断片、ジスルフィド

安定化Ｆｖ断片（disulfide stabilized Fv、ｄｓＦｖ）、（ｄｓＦｖ）２、二重特異性ｄｓＦｖ（ｄｓＦｖ－ｄｓＦｖ’）、単鎖抗体分子（例えば、ｓｃＦＶ）、ダイアボディ、ミニボディ、ナノボディ、直鎖抗体、単一ドメイン抗体（single domain antibody、ｓｄａｂ）、ラクダ化された単一ドメイン抗体、抗体断片から形成される多重特異性抗体、及び抗原に結合するが完全な抗体構造を含まない任意の他の抗体断片を挙げることができる。

【００５８】

抗体は、２つの重鎖と２つの軽鎖とからなる。各重鎖は、１つの可変ドメイン又は領域（V_H）、続いて定常ドメイン又は領域（C_H1）、ヒンジ領域、並びに更に２つの定常ドメイン又は領域（C_H2及びC_H3）を有する。各軽鎖は、１つの可変ドメイン又は領域（V_L）及び１つの定常ドメイン又は領域（C_L）を有する。重鎖及び軽鎖の可変ドメイン又は領域は、特定のエピトープ（鍵に類似の構造）に特異的な抗体（同様に錠に類似の構造）のパラトープを形成し、パラトープ及びエピトープを精度よく一緒に結合することを可能にする。可変ドメイン内では、軽鎖及び重鎖にそれぞれ３つある可変ループのβ－ストランドが抗原への結合を担っている。これらのループは、相補性決定領域（ＣＤＲ、すなわち、ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３）と称される。

【００５９】

ＣＤＲは、抗体の相補性決定領域として定義される。これらは、抗原への結合に主に関与する、抗体の重鎖及び軽鎖の超可変領域である。重鎖及び軽鎖の可変領域のそれぞれに、３つのＣＤＲ（ＣＤＲ１、ＣＤＲ２及びＣＤＲ３）が存在する。軽鎖可変相補性決定領域は、あるいは、ＬＣＤＲ１、ＬＣＤＲ２、及びＬＣＤＲ３と称され、重鎖可変相補性決定領域は、あるいはＨＣＤＲ１、ＨＣＤＲ２、及びＨＣＤＲ３と称される。抗体のＣＤＲは、多くの方法で定義され得る。例えば、可変領域内のＣＤＲは、Ｋａｂａｔ、Ｃｈｏｔｈｉａ、ＩＭＧＴの定義、及び／又は立体構造定義、又は当該技術分野において周知のＣＤＲ決定の任意の方法に従って特定され得る。抗体ＣＤＲは、Ｋａｂａｔ（Ｋａｂａｔ ｅｔ ａｌ．，１９９２、Ｓｅｑｕｅｎｃｅｓ ｏｆ Ｐｒｏｔｅｉｎｓ ｏｆ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｉｃａｌ Ｉｎｔｅｒｅｓｔ、５ｔｈ ｅｄ．，Ｐｕｂｌｉｃ Ｈｅａｌｔｈ Ｓｅｒｖｉｃｅ，ＮＩＨ，Ｗａｓｈｉｎｇｔｏｎ Ｄ．Ｃ．）によって元来定義される超可変領域、Ｃｈｏｔｈｉａ（Ｃｈｏｔｈｉａ ｅｔ ａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ ３４２：８７７－８８３（１９８９））によって元来説明される構造的ループ構造、又は独自の付番方式のＩＭＧＴ（Ｌｅｆｒａｎｃ，Ｔｈｅ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｉｓｔ ７：１３２－１３６（１９９９）；Ｌｅｆｒａｎｃ，ｅｔ ａｌ．，Ｎｕｃｌｅｉｃ Ａｃｉｄｓ Ｒｅｓ．２７：２０９－２１２（１９９９）、Ｓｃａｖｉｎｅｒ ｅｔ ａｌ．，Ｅｘｐ．Ｃｌｉｎ．Ｉｍｍｕｎｏｇｅｎｅｔ．１６：２３４－２４０（１９９９），Ｌｅｆｒａｎｃ，ｅｔ ａｌ．，Ｎｕｃｌｅｉｃ Ａｃｉｄｓ Ｒｅｓ．４３：Ｄ４１３－４２２（２０１５））として特定され得る。

【００６０】

抗体の文脈において使用される場合、「単離された」とは、「人間の手によって」任意の天然の状態から変化したことを意味し、すなわち、自然に単離が生じた場合は、その元の環境から変化するか若しくは除去されるか、又はその両方が行われている。例えば、天然の状態で生きている動物に天然に存在する自然発生抗体は「単離されていない」が、その天然状態の既存の材料から分離された同じ抗体は「単離されている」。本明細書において用語が用いられる場合、例えば、「単離された抗体」は、異なる抗原特異性を有する他の抗体を実質的に含まない抗体（すなわち、３ｐＥ Ａβに特異的に結合する単離された抗体は、３ｐＥ Ａβに結合しない抗体を実質的に含まない）を指すことができる。抗体は、イムノアッセイ試薬などの自然発生しない組成物において生じることができ、本明細書において本用語が用いられる場合、用語の意味の範囲において、組成物において単離された抗体のままであり続けることができる。

【００６１】

抗体を産生する方法は、宿主に所望の免疫原を接種することを含む。好適な宿主としては、マウス、ラット、ハムスター、モルモット、ウサギ、ニワトリ、ロバ、ウマ、サル、

チンパンジー、オランウータン、ゴリラ、ヒト、及び成熟した免疫応答を起こすことができる任意の種が挙げられるが、これらに限定されない。免疫化手順は、当該技術分野において確立されており、「Ｔｈｅ　Ｉｍｍｕｎｏａｓｓａｙ　Ｈａｎｄｂｏｏｋ」，２ｎｄ　Ｅｄｉｔｉｏｎ，ｅｄｉｔｅｄ　ｂｙ　Ｄａｖｉｄ　Ｗｉｌｄ（Ｎａｔｕｒｅ　Ｐｕｂｌｉｓｈｉｎｇ　Ｇｒｏｕｐ，２０００）を含む、多くの論文及び出版物に記載されている。

【００６２】

好ましくは、本発明の特徴を具現化する免疫原は、宿主対象、例えば、動物又はヒトに、アジュバントと組み合わせて投与される。好適なアジュバントとしては、フロイント（Freund's）アジュバント、粉末水酸化アルミニウム（ミョウバン）、百日咳菌と合わせた水酸化アルミニウム、及びモノホスホリルリピドＡ－合成トレハロースジコリノミコレートが挙げられるが、これらに限定されない。

【００６３】

典型的には、免疫原又は免疫原とアジュバントとの組み合わせは、１つ又は複数の皮下若しくは腹腔内注入によって哺乳動物の宿主に注入される。好ましくは、免疫化プログラムは、少なくとも１週間にわたって、より好ましくは、２週間以上にわたって実行される。この様式で産生されるポリクローナル抗体は、当該技術分野において周知の方法を利用して単離及び精製され得る。

【００６４】

モノクローナル抗体は、Ｋｏｈｌｅｒ及びＭｉｌｓｔｅｉｎの、例えば、Ｎａｔｕｒｅ　２５６：４９５～４９７（１９７５）の、確立されたハイブリドーマ方法によって産生可能である。ハイブリドーマ方法は、典型的には、宿主又は宿主由来のリンパ球を免疫化することと、リンパ球を分泌するか、それを分泌する可能性のあるモノクローナル抗体を採取することと、リンパ球を不死化細胞に融合することと、及び所望のモノクローナル抗体を分泌する細胞を選択することと、を伴う。

【００６５】

宿主は、免疫化されて、免疫原に対して特異的な抗体を産生するか、又は産生することのできるリンパ球を誘発することができる。あるいは、リンパ球はインビトロで免疫化することもできる。ヒト細胞が所望される場合、末梢血リンパ球を使用することができるが、他の哺乳動物の供給源由来の脾臓細胞又はリンパ球が好ましい。

【００６６】

リンパ球を不死化細胞株と融合させて、ハイブリドーマ細胞を形成することができるが、これは融剤、例えば、ポリエチレングリコールの使用によって促進され得るプロセスである。例として、形質転換によって不死化された変異体げっ歯類、ウシ、又はヒト骨髄腫細胞を用いることができる。非融合不死化細胞とは対照的に、ハイブリドーマ細胞の実質的に純粋な集団が好ましい。したがって、融合後、例えば、ヒポキサンチングアニンホスホリボシル転移酵素（ＨＧＰＲＴ）を欠く変異骨髄腫細胞を用いることによって、非融合不死化細胞の増殖又は生存を阻害する好適な培地内で細胞を増殖させることができる。そのような事例において、ヒポキサンチン、アミノプテリン、及びチミジンを培地（ＨＡＴ培地）に添加して、ＨＧＰＲＴ欠乏性細胞の増殖を阻止すると同時に、ハイブリドーマの増殖を可能にすることができる。

【００６７】

好ましくは、不死化細胞は、効率的に融合し、ＨＡＴなどの培地の選択によって混合集団から単離され得、融合後の抗体の安定した高レベルの発現を支持する。好ましい不死化細胞株は、Ａｍｅｒｉｃａｎ　Ｔｙｐｅ　Ｃｕｌｔｕｒｅ　Ｃｏｌｌｅｃｔｉｏｎ，Ｍａｎａｓｓａｓ，ＶＡから入手可能な骨髄腫細胞株を含む。

【００６８】

本発明の一態様は、アミロイドβペプチドに結合するモノクローナル抗体を産生できるハイブリドーマ細胞株を生成する方法である。そのような方法は、当業者に一般的に知られており、一般に、（ｉ）抗体産生のための宿主を選択することと、（ｉｉ）宿主に所望の免疫原を接種することと、（ｉｉｉ）免疫原に結合するモノクローナル抗体を産生する

ことができる融合細胞を作製するために、接種された宿主由来の細胞株を連続的に分裂する細胞と融合させることと、（ｉｖ）融合細胞をクローニングしてハイブリドーマ細胞株を得ることと、を含む。

【００６９】

本発明の一方法は、３ｐＥ　Ａβペプチドに結合するモノクローナル抗体を産生できるハイブリドーマ細胞株を生成することを含む。ハイブリドーマは、フロイントアジュバント中のピログルタメートを有するＡβペプチドなどの所望の免疫原の最初の腹腔内注射、続いて、例えば１～２週間ごとの追加免疫注射で、Ｂａｌｂ／ｃマウスなどのハイブリドーマを生成することができる動物を免疫化することによって生成され得る。その後の単離された脾臓の融合は、当業者に一般に知られている任意の技術を使用して、好ましくは、Ｋｏｈｌｅｒ及びＭｉｌｓｔｅｉｎの改変手順（Ｅｕｒ．Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．，１９７６；６：２９２－２９５）によるＳＰ２／０細胞を使用して実施され得る。ハイブリドーマをスクリーニングして、３ｐＥ　Ａβペプチドに特異的な抗体を産生するハイブリドーマを判定することができる。スクリーニングは、ＥＬＩＳＡ又はＲＩＡアッセイなどの標準的なアッセイで行うことができる。本発明の一態様は、モノクローナル抗体ＢＡＭＢ３１＿１又はそのヒト化バージョンを産生するハイブリドーマ細胞株を生成する方法である。

【００７０】

モノクローナル抗体は、例えば、米国特許第４，１６６，４５２号に記載されているような当該技術分野において既知の遺伝子組換え方法によっても産生され得る。ＤＮＡコード化モノクローナル抗体は、従来の手順を使用して、例えば、マウスの重及び軽抗体鎖遺伝子に特異的に結合し、好ましくは、ピログルタメートを有するＡβに対して特異的な抗体を分泌するモノクローナル抗体ハイブリドーマ細胞株から単離されたＤＮＡを探索する、オリゴヌクレオチド探索子を使用して単離及び配列決定され得る。

【００７１】

アミロイドβペプチドに対して特異的な結合部位を含有する抗体断片も生成され得る。このような断片として、抗体分子のペプシン消化により生成することができるＦ（ａｂ’）$_2$断片、及びＦ（ａｂ’）$_2$断片のジスルフィド架橋を減少させることにより発生し得るＦａｂ断片が挙げられるが、これらに限定されない。あるいは、所望の特異性を有するモノクローナルＦａｂ断片を迅速かつ容易に同定することができるように、Ｆａｂ発現ライブラリを構築してもよい（Ｈｕｓｅ　ｅｔ　ａｌ．，Ｓｃｉｅｎｃｅ２５６：１２７０－１２８１（１９８９））。Ｆａｂ、Ｆｖ、及びＳｃＦｖ抗体断片は全て、大腸菌において発現し、大腸菌から分泌され得、これらの断片の大量生産を可能にする。あるいは、Ｆａｂ’－ＳＨ断片は、大腸菌から直接回収され、化学的に連結されて、Ｆ（ａｂ’）$_2$断片を形成することができる（Ｃａｒｔｅｒ　ｅｔ．ａｌ．，ＢｉｏＴｅｃｈｎｏｌｏｇｙ１０：１６３－１６７（１９９２））。抗体断片の生成のための他の技術は、当業者に既知である。単鎖Ｆｖ断片（ｓｃＦｖ）もまた想定される（例えば、米国特許第５，７６１，８９４号及び同第５，５８７，４５８号参照）。Ｆｖ及びｓＦｖ断片は、定常領域を有さない完全な組み合わせ部位を有する唯一の種であり、これにより、非特異的な結合の低減が示される可能性が高い。例えば、抗体断片は、例えば、米国特許第５，６４２，８７０号に記載されるような「線状抗体」であってもよい。

【００７２】

したがって、本発明の目的は、上記のハイブリドーマ細胞によって発現される単離モノクローナル抗体を提供することであり、この抗体は３ｐＥ　Ａβを特異的に認識することができる。単離モノクローナル抗体は、ハイブリドーマ細胞によって発現させるか、又は組換えにより発現させることができる。

【００７３】

好ましくは、本発明の抗体又はその抗原結合断片は、３ｐＥ　Ａβに選択的に結合し、３ｐＥを有していない他のＡβ又はβ－アミロイド前駆体タンパク質（ＡＰＰ）に対する交差反応性がほとんどないか、又は全くない。具体的には、本発明の抗体又はその抗原結合断片は、Ａβ　３ｐＥ－４０（配列番号４０又は配列番号４５）及びＡβ　３ｐＥ－４２

（配列番号５１）のペプチドに選択的に結合し、他の３ｐＥを含有していないＡβペプチド又はＡＰＰに対する交差反応性がほとんどないか、又は全くない。

【００７４】

表１は、本発明の抗体のアミノ酸配列を提供する。Ｋａｂａｔ、Ｃｈｏｔｈｉａ、及びＩＭＧＴによって定義される重鎖及び軽鎖の可変領域のＣＤＲは、別個の配列として説明される。

【００７５】

【表１－１】

表１：３ｐＥ　Ａβモノクローナル抗体の配列

mAb	領域	配列番号	配列
BAMB31＿1	重鎖		
	VH	9	EIQLQQSGPELVKPGTSVKVSCKASGHVFTSYDMYWVKQS HGKSLEWIGYIDSDNGDTSYNQKFKGKATLTVDKSSSTAYM HLNSLTSEDSAVYYCAYYRYAMDYWGQGTSVTVSS
	HCDR1 Kabat	1	SYDMY
	HCDR1 AbM	56	GHVFTSYDMY
	HCDR2 Kabat	7	YIDSDNGDTSYNQKFKG
	HCDR2 AbM	57	DSDNGDTS
	HCDR3	3	YRYAMDY
	軽鎖		
	VL	10	DVVMTQTPLTLSVTIGQPASISCKSSQSLLDSNGKTYLTWL LQRPGQSPKRLIYLVSKLDSGVPDRFTGSGAGTDFTLKIIRV EAEDLGVYYCWQGTHFPYTFGGGTKLEIK
	LCDR1	8	KSSQSLLDSNGKTYLT
	LCDR2	5	LVSKLDS
	LCDR3	6	WQGTHFPYT
BAMB31＿2a	重鎖	23	EIQLQQSGPELVKPGTSVKVSCKASGHVFTSYDMYWVKQS HGKSLEWIGYIDSDNGDTSYNQKFKGKATLTVDKSSSTAYM HLNSLTSEDSAVYYCAYYRYAMDYWGQGTSVTVSSAKTTA PSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSL SSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHP ASSTKVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNLLGGPSVFIFPPK IKDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWFVNNVEVHTAQ TQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQDWMSGKEFKCKVNNKDL PAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPPEEEMTKKQVTLTCMV TDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDSDGSYFMYSKL RVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGK
	VH	9	EIQLQQSGPELVKPGTSVKVSCKASGHVFTSYDMYWVKQS HGKSLEWIGYIDSDNGDTSYNQKFKGKATLTVDKSSSTAYM HLNSLTSEDSAVYYCAYYRYAMDYWGQGTSVTVSS
	HCDR1 Kabat	1	SYDMY
	HCDR1 AbM	56	GHVFTSYDMY
	HCDR2 Kabat	7	YIDSDNGDTSYNQKFKG
	HCDR2 AbM	57	DSDNGDTS
	HCDR3	3	YRYAMDY
	軽鎖	24	DVVMTQTPLTLSVTIGQPASISCKSSQSLLDSNGKTYLTWL LQRPGQSPKRLIYLVSKLDSGVPDRFTGSGAGTDFTLKIIRV EAEDLGVYYCWQGTHFPYTFGGGTKLEIKRADAAPTVSIFPP SSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSERQNGVLN SWTDQDSKDSTYSMSSTLTLTKDEYERHNSYTCEATHKTS TSPIVKSFNRNEC
	VL	10	DVVMTQTPLTLSVTIGQPASISCKSSQSLLDSNGKTYLTWL LQRPGQSPKRLIYLVSKLDSGVPDRFTGSGAGTDFTLKIIRV EAEDLGVYYCWQGTHFPYTFGGGTKLEIK
	LCDR1	8	KSSQSLLDSNGKTYLT
	LCDR2	5	LVSKLDS
	LCDR3	6	WQGTHFPYT

【００７６】

【表１－２】

（表１の続き）

mAb	領域	配列番号	配列
BAMB246	重鎖	25	EIQLQQSGPELVKPGTSVKVSCKASGHVFTSYDMYWVKQS HGKSLEWIGYIDSDNGDTSYNQKFKGKATLTVDKSSSTAYM HLNSLTSEDSAVYYCAYYRYAMDYWGQGTSVTVSSASTKG PSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV SNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVS LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFF LYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GK
	VH	9	EIQLQQSGPELVKPGTSVKVSCKASGHVFTSYDMYWVKQS HGKSLEWIGYIDSDNGDTSYNQKFKGKATLTVDKSSSTAYM HLNSLTSEDSAVYYCAYYRYAMDYWGQGTSVTVSS
	HCDR1 Kabat	1	SYDMY
	HCDR1 AbM	56	GHVFTSYDMY
	HCDR2 Kabat	7	YIDSDNGDTSYNQKFKG
	HCDR2 AbM	57	YIDSDNGDTS
	HCDR3	3	YRYAMDY
	軽鎖	26	DVVMTQTPLTLSVTIGQPASISCKSSQSLLDSNGKTYLTWL LQRPGQSPKRLIYLVSKLDSGVPDRFTGSGAGTDFTLKIIRV EAEDLGVYYCWQGTHFPYTFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPP SDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNS QESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQ GLSSPVTKSFNRGEC
	VL	10	DVVMTQTPLTLSVTIGQPASISCKSSQSLLDSNGKTYLTWL LQRPGQSPKRLIYLVSKLDSGVPDRFTGSGAGTDFTLKIIRV EAEDLGVYYCWQGTHFPYTFGGGTKLEIK
	LCDR1	8	KSSQSLLDSNGKTYLT
	LCDR2	5	LVSKLDS
	LCDR3	6	WQGTHFPYT
BAMB611	重鎖	27	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGHVFTSYDMYWVRQ APGQGLEWMGYIDSDNGDTSYNQKFKGRVTMTVDTSTSTV YMELSSLRSEDTAVYYCAYYRYAMDYWGQGTLVTVSSAST KGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVF LFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGS FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSL SPGK
	VH	11	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGHVFTSYDMYWVRQ APGQGLEWMGYIDSDNGDTSYNQKFKGRVTMTVDTSTSTV YMELSSLRSEDTAVYYCAYYRYAMDYWGQGTLVTVSS
	HCDR1 Kabat	1	SYDMY

【００７７】

【表１－３】

（表１の続き）

mAb	領域	配列番号	配列
	HCDR1 AbM	56	GHVFTSYDMY
	HCDR2 Kabat	7	YIDSDNGDTSYNQKFKG
	HCDR2 AbM	57	YIDSDNGDTS
	HCDR3	3	YRYAMDY
	軽鎖	28	DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLDSNGKTYLTWF QQRPGQSPRRLIYLVSKLDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISR VEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFP PSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNS QESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQ GLSSPVTKSFNRGEC
	VL	12	DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLDSNGKTYLTWF QQRPGQSPRRLIYLVSKLDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISR VEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGGGTKLEIK
	LCDR1	8	KSSQSLLDSNGKTYLT
	LCDR2	5	LVSKLDS
	LCDR3	6	WQGTHFPYT
BAMB612	重鎖	29	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGHVFTSYDMYWVRQ SPGQGLEWIGYIDSDNGDTSYNQKFKGRVTLTVDTSTSTVY MELSSLRSEDTAVYYCAYYRYAMDYWGQGTLVTVSSASTK GPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNV NHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGV EVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLS PGK
	VH	13	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGHVFTSYDMYWVRQ SPGQGLEWIGYIDSDNGDTSYNQKFKGRVTLTVDTSTSTVY MELSSLRSEDTAVYYCAYYRYAMDYWGQGTLVTVSS
	HCDR1 Kabat	1	SYDMY
	HCDR1 AbM	56	GHVFTSYDMY
	HCDR2 Kabat	7	YIDSDNGDTSYNQKFKG
	HCDR2 AbM	57	YIDSDNGDTS
	HCDR3	3	YRYAMDY
	軽鎖	30	DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLDSRAKTYLTWL QQRPGQSPRRLIYLVSKLDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISR VEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFP PSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNS QESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQ GLSSPVTKSFNRGEC
	VL	14	DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLDSRAKTYLTWL QQRPGQSPRRLIYLVSKLDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISR VEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGGGTKLEIK

【００７８】

【表１－４】

（表１の続き）

mAb	領域	配列番号	配列
	LCDR1	4	KSSQSLLDSRAKTYLT
	LCDR2	5	LVSKLDS
	LCDR3	6	WQGTHFPYT
BAMB613	重鎖	31	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGHVFTSYDMYWVRQ APGQGLEWIGYIDSDNGDTSYNQKFKGKVTLTVDTSTSTVY MELSSLRSEDTAVYYCAYYRYAMDYWGQGTLVTVSSASTK GPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNV NHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGV EVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLS PGK
	VH	15	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGHVFTSYDMYWVRQ APGQGLEWIGYIDSDNGDTSYNQKFKGKVTLTVDTSTSTVY MELSSLRSEDTAVYYCAYYRYAMDYWGQGTLVTVSS
	HCDR1 Kabat	1	SYDMY
	HCDR1 AbM	56	GHVFTSYDMY
	HCDR2 Kabat	7	YIDSDNGDTSYNQKFKG
	HCDR2 AbM	57	YIDSDNGDTS
	HCDR3	3	YRYAMDY
	軽鎖	30	DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLDSRAKTYLTWL QQRPGQSPRRLIYLVSKLDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISR VEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFP PSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNS QESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQ GLSSPVTKSFNRGEC
	VL	14	DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLDSRAKTYLTWL QQRPGQSPRRLIYLVSKLDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISR VEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGGGTKLEIK
	LCDR1	4	KSSQSLLDSRAKTYLT
	LCDR2	5	LVSKLDS
	LCDR3	6	WQGTHFPYT
BAMB614	重鎖	32	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGHVFTSYDMYWVRQ APGQGLEWIGYIDSDNGDTSYNQKFKGRVTLTVDTSTSTVY MELSSLRSEDTAVYYCAYYRYAMDYWGQGTLVTVSSASTK GPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNV NHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGV EVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLS PGK

【００７９】

【表１－５】

（表１の続き）

mAb	領域	配列番号	配列
	VH	16	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGHVFTSYDMYWVRQ APGQGLEWIGYIDSDNGDTSYNQKFKGRVTLTVDTSTSTVY MELSSLRSEDTAVYYCAYYRYAMDYWGQGTLVTVSS
	HCDR1 Kabat	1	SYDMY
	HCDR1 AbM	56	GHVFTSYDMY
	HCDR2 Kabat	7	YIDSDNGDTSYNQKFKG
	HCDR2 AbM	57	YIDSDNGDTS
	HCDR3	3	YRYAMDY
	軽鎖	30	DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLDSRAKTYLTWL QQRPGQSPRRLIYLVSKLDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISR VEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFP PSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNS QESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQ GLSSPVTKSFNRGEC
	VL	14	DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLDSRAKTYLTWL QQRPGQSPRRLIYLVSKLDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISR VEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGGGTKLEIK
	LCDR1	4	KSSQSLLDSRAKTYLT
	LCDR2	5	LVSKLDS
	LCDR3	6	WQGTHFPYT
BAMB630	重鎖	33	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGHVFTSYDMYWVKQ APGQSLEWIGYIDSDNGDTSYNQKFKGKVTLTVDTSTSTVY MELSSLRSEDTAVYYCAYYRYAMDYWGQGTLVTVSSASTK GPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNV NHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGV EVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLS PGK
	VH	17	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGHVFTSYDMYWVKQ APGQSLEWIGYIDSDNGDTSYNQKFKGKVTLTVDTSTSTVY MELSSLRSEDTAVYYCAYYRYAMDYWGQGTLVTVSS
	HCDR1 Kabat	1	SYDMY
	HCDR1 AbM	56	GHVFTSYDMY
	HCDR2 Kabat	7	YIDSDNGDTSYNQKFKG
	HCDR2 AbM	57	YIDSDNGDTS
	HCDR3	3	YRYAMDY
	軽鎖	34	DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLDSRAKTYLTWL LQRPGQSPRRLIYLVSKLDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISR VEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFP PSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNS QESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQ GLSSPVTKSFNRGEC

【００８０】

【表１－６】

（表１の続き）

mAb	領域	配列番号	配列
	VL	18	DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLDSRAKTYLTWL LQRPGQSPRRLIYLVSKLDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISR VEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGGGTKLEIK
	LCDR1	4	KSSQSLLDSRAKTYLT
	LCDR2	5	LVSKLDS
	LCDR3	6	WQGTHFPYT
BAMB631	重鎖	35	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGHVFTSYDMYWVRQ APGQSLEWMGYIDSDNGDTSYNQKFKGRVTLTVDTSTSTV YMELSSLRSEDTAVYYCAYYRYAMDYWGQGTLVTVSSAST KGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVF LFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGS FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSL SPGK
	VH	19	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGHVFTSYDMYWVRQ APGQSLEWMGYIDSDNGDTSYNQKFKGRVTLTVDTSTSTV YMELSSLRSEDTAVYYCAYYRYAMDYWGQGTLVTVSS
	HCDR1 Kabat	1	SYDMY
	HCDR1 AbM	56	GHVFTSYDMY
	HCDR2 Kabat	7	YIDSDNGDTSYNQKFKG
	HCDR2 AbM	57	YIDSDNGDTS
	HCDR3	3	YRYAMDY
	軽鎖	34	DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLDSRAKTYLTWL LQRPGQSPRRLIYLVSKLDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISR VEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFP PSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNS QESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQ GLSSPVTKSFNRGEC
	VL	18	DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLDSRAKTYLTWL LQRPGQSPRRLIYLVSKLDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISR VEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGGGTKLEIK
	LCDR1	4	KSSQSLLDSRAKTYLT
	LCDR2	5	LVSKLDS
	LCDR3	6	WQGTHFPYT
BAMB623	重鎖	36	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGHVFTSYDMYWVRQ APGQSLEWIGYIDSDNGDTSYNQKFKGKATMTVDTSTSTVY MELSSLRSEDTAVYYCAYYRYAMDYWGQGTLVTVSSASTK GPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNV NHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGV EVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLS PGK

【００８１】

【表１－７】

（表１の続き）

mAb	領域	配列番号	配列
	VH	20	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGHVFTSYDMYWVRQ APGQSLEWIGYIDSDNGDTSYNQKFKGKATMTVDTSTSTVY MELSSLRSEDTAVYYCAYYRYAMDYWGQGTLVTVSS
	HCDR1 Kabat	1	SYDMY
	HCDR1 AbM	56	GHVFTSYDMY
	HCDR2 Kabat	7	YIDSDNGDTSYNQKFKG
	HCDR2 AbM	57	YIDSDNGDTS
	HCDR3	3	YRYAMDY
	軽鎖	30	DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLDSRAKTYLTWL QQRPGQSPRRLIYLVSKLDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISR VEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFP PSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNS QESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQ GLSSPVTKSFNRGEC
	VL	14	DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLDSRAKTYLTWL QQRPGQSPRRLIYLVSKLDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISR VEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGGGTKLEIK
	LCDR1	4	KSSQSLLDSRAKTYLT
	LCDR2	5	LVSKLDS
	LCDR3	6	WQGTHFPYT
BAMB674	重鎖	37	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGHVFTSYDMYWVRQ APGQGLEWIGYIDSDSGDTSYNQKFKGRVTLTVDTSTSTVY MELSSLRSEDTAVYYCAYYRYAMDYWGQGTLVTVSSASTK GPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNV NHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGV EVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLS PGK
	VH	21	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGHVFTSYDMYWVRQ APGQGLEWIGYIDSDSGDTSYNQKFKGRVTLTVDTSTSTVY MELSSLRSEDTAVYYCAYYRYAMDYWGQGTLVTVSS
	HCDR1 Kabat	1	SYDMY
	HCDR1 AbM	56	GHVFTSYDMY
	HCDR2 Kabat	2	YIDSDSGDTSYNQKFKG
	HCDR2 AbM	58	YIDSDSGDTS
	HCDR3	3	YRYAMDY
	軽鎖	38	DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLDSRAKTYLTWL QQRPGQSPRRLIYLVSKLDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISR VEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFP PSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNS QESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQ GLSSPVTKSFNRGEC

【００８２】

【表１－８】

（表１の続き）

mAb	領域	配列番号	配列
	VL	22	DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLDSRAKTYLTWL QQRPGQSPRRLIYLVSKLDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISR VEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGGGTKLEIK
	LCDR1	4	KSSQSLLDSRAKTYLT
	LCDR2	5	LVSKLDS
	LCDR3	6	WQGTHFPYT
BAMB675	重鎖	39	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGHVFTSYDMYWVRQ APGQGLEWIGYIDSDSGDTSYNQKFKGRVTLTVDTSTSTVY MELSSLRSEDTAVYYCAYYRYAMDYWGQGTLVTVSSASTK GPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNV NHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFL FPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV SNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVS LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFF LYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GK
	VH	21	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGHVFTSYDMYWVRQ APGQGLEWIGYIDSDSGDTSYNQKFKGRVTLTVDTSTSTVY MELSSLRSEDTAVYYCAYYRYAMDYWGQGTLVTVSS
	HCDR1 Kabat	1	SYDMY
	HCDR1 AbM	56	GHVFTSYDMY
	HCDR2 Kabat	2	YIDSDSGDTSYNQKFKG
	HCDR2 AbM	58	YIDSDSGDTS
	HCDR3	3	YRYAMDY
	軽鎖	38	DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLDSRAKTYLTWL QQRPGQSPRRLIYLVSKLDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISR VEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFP PSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNS QESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQ GLSSPVTKSFNRGEC
	VL	22	DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLDSRAKTYLTWL QQRPGQSPRRLIYLVSKLDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISR VEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGGGTKLEIK
	LCDR1	4	KSSQSLLDSRAKTYLT
	LCDR2	5	LVSKLDS
	LCDR3	6	WQGTHFPYT
BAMB700	重鎖	37	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGHVFTSYDMYWVRQ APGQGLEWIGYIDSDSGDTSYNQKFKGRVTLTVDTSTSTVY MELSSLRSEDTAVYYCAYYRYAMDYWGQGTLVTVSSASTK GPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNV NHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGV EVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLS PGK

【００８３】

【表１－９】

（表１の続き）

mAb	領域	配列番号	配列
	VH	21	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGHVFTSYDMYWVRQ APGQGLEWIGYIDSDSGDTSYNQKFKGRVTLTVDTSTSTVY MELSSLRSEDTAVYYCAYYRYAMDYWGQGTLVTVSS
	HCDR1 Kabat	1	SYDMY
	HCDR1 AbM	56	GHVFTSYDMY
	HCDR2 Kabat	2	YIDSDSGDTSYNQKFKG
	HCDR2 AbM	58	YIDSDSGDTS
	HCDR3	3	YRYAMDY
	軽鎖	52	DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLDSRAKTYLTWL QQRPGQSPRRLIYLVSKLDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISR VEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFP PSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNS QESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQ GLSSPVTKSFNRGEC
	VL	53	DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLDSRAKTYLTWL QQRPGQSPRRLIYLVSKLDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISR VEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGQGTKLEIK
	LCDR1	4	KSSQSLLDSRAKTYLT
	LCDR2	5	LVSKLDS
	LCDR3	6	WQGTHFPYT
BAMB701	重鎖	39	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGHVFTSYDMYWVRQ APGQGLEWIGYIDSDSGDTSYNQKFKGRVTLTVDTSTSTVY MELSSLRSEDTAVYYCAYYRYAMDYWGQGTLVTVSSASTK GPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNV NHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFL FPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV SNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVS LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFF LYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GK
	VH	21	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGHVFTSYDMYWVRQ APGQGLEWIGYIDSDSGDTSYNQKFKGRVTLTVDTSTSTVY MELSSLRSEDTAVYYCAYYRYAMDYWGQGTLVTVSS
	HCDR1 Kabat	1	SYDMY
	HCDR1 AbM	56	GHVFTSYDMY
	HCDR2 Kabat	2	YIDSDSGDTSYNQKFKG
	HCDR2 AbM	58	YIDSDSGDTS
	HCDR3	3	YRYAMDY
	軽鎖	54	DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLDSRAKTYLTWL QQRPGQSPRRLIYLVSKLDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISR VEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIF PPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGN SQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTH QGLSSPVTKSFNRGEC

【００８４】

【表１－１０】

（表１の続き）

mAb	領域	配列番号	配列
	VL	55	DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLDSRAKTYLTWL QQRPGQSPRRLIYLVSKLDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISR VEAEDVGVYYCWQGTHFPYTFGGGTKVEIK
	LCDR1	4	KSSQSLLDSRAKTYLT
	LCDR2	5	LVSKLDS
	LCDR3	6	WQGTHFPYT

【００８５】

「同一」又は「同一性」パーセントという用語は、２つ以上の核酸又はポリペプチド配列（例えば、抗３ｐＥ　Ａβ抗体及びそれをコードしているポリヌクレオチド、３ｐＥ　Ａβポリペプチド及びそれをコードしている３ｐＥ　Ａβポリヌクレオチド）に関連して、以下の配列比較アルゴリズムのうちの１つを使用して又は目視検査によって測定したとき、一致が最大になるように比較及びアラインメントした場合に同じであるか、又は特定のパーセントの同じであるアミノ酸残基若しくはヌクレオチドを有する２つ以上の配列又はサブ配列を指す。

【００８６】

配列比較のために、典型的には、１つの配列は、試験配列が比較される参照配列として作用する。配列比較アルゴリズムを使用する場合、試験及び参照配列がコンピュータに入力され、必要に応じて、サブシーケンス座標が指定され、配列アルゴリズムプログラムパラメータが指定される。次いで、配列比較アルゴリズムは、指定されたプログラムパラメータに基づいて、参照配列に対する試験配列の配列同一性パーセントを計算する。

【００８７】

比較のための配列の最適なアライメントは、例えば、Ｓｍｉｔｈ＆Ｗａｔｅｒｍａｎ，Ａｄｖ．Ａｐｐｌ．Ｍａｔｈ．２：４８２（１９８１）の局所相同性アルゴリズム、Ｎｅｅｄｌｅｍａｎ＆Ｗｕｎｓｃｈ，Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．４８：４４３（１９７０）の相同性アライメントアルゴリズム、Ｐｅａｒｓｏｎ＆Ｌｉｐｍａｎ，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔ’ｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ８５：２４４４　（１９８８）の類似検索方法、これらのアルゴリズムのコンピュータ化された実装（Ｗｉｓｃｏｎｓｉｎ　Ｇｅｎｅｔｉｃｓ　Ｓｏｆｔｗａｒｅ　Ｐａｃｋａｇｅ，Ｇｅｎｅｔｉｃｓ　Ｃｏｍｐｕｔｅｒ　Ｇｒｏｕｐ，５７５　Ｓｃｉｅｎｃｅ　Ｄｒ．，Ｍａｄｉｓｏｎ，ＷＩにおけるＧＡＰ、ＢＥＳＴＦＩＴ、ＦＡＳＴＡ、及びＴＦＡＳＴＡ）、又は目視検査（一般的に、Ｃｕｒｒｅｎｔ　Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ　ｉｎ　Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｂｉｏｌｏｇｙ，Ｆ．Ｍ．Ａｕｓｕｂｅｌ　ｅｔ　ａｌ．，ｅｄｓ．，Ｃｕｒｒｅｎｔ　Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ，ａ　ｊｏｉｎｔ　ｖｅｎｔｕｒｅ　ｂｅｔｗｅｅｎ　Ｇｒｅｅｎｅ　Ｐｕｂｌｉｓｈｉｎｇ　Ａｓｓｏｃｉａｔｅｓ，Ｉｎｃ．ａｎｄ　Ｊｏｈｎ　Ｗｉｌｅｙ＆Ｓｏｎｓ，Ｉｎｃ．，（１９９５　Ｓｕｐｐｌｅｍｅｎｔ）（Ａｕｓｕｂｅｌ）を参照されたい）によって行うことができる。

【００８８】

配列同一性パーセント及び配列類似性を決定するのに好適なアルゴリズムの例は、それぞれ、Ａｌｔｓｃｈｕｌ　ｅｔ　ａｌ．（１９９０）Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．２１５：４０３－４１０及びＡｌｔｓｃｈｕｌ　ｅｔ　ａｌ．（１９９７）Ｎｕｃｌｅｉｃ　Ａｃｉｄｓ　Ｒｅｓ．２５：３３８９－３４０２にそれぞれ記載されているＢＬＡＳＴ及びＢＬＡＳＴ２．０アルゴリズムである。ＢＬＡＳＴ分析を行うソフトウェアは、国立生物工学情報センター（National Center for Biotechnology Information）を通じて公的に入手可能である。このアルゴリズムは、最初に、データベース配列における同じ長さのワードとアラインメントしたときに一致するか、又はいくつかの正の値の閾値スコアＴを満たすかのいずれかの、クエリー配列における長さＷの短いワードを同定することによって、高スコア配列対（ＨＳＰ）を同定することを含む。Ｔは、隣接ワードスコア閾値（Ａｌｔｓｃｈ

ｕｌ　ｅｔ　ａｌ．，上記）と称される。これらの初期隣接ワードヒットは、それを含有するより長いＨＳＰを見つけるための検索を開始するためのシードとして機能する。次いで、累積アラインメントスコアを増加させることができる限り、各配列に沿ってワードヒットを両方向に延長する。

【００８９】

ヌクレオチド配列については、パラメータＭ（一致する残基の対についてのリワードスコア、常に＞０）及びＮ（不一致の残基についてのペナルティスコア、常に＜０）を使用して累積スコアを計算する。アミノ酸配列については、スコアリングマトリックスを使用して累積スコアを計算する。累積アラインメントスコアがその最大獲得値から量Ｘだけ低下したとき、１つ又は２つ以上の負のスコアリング残基のアラインメントの蓄積により、累積スコアがゼロ以下になったとき、又はいずれかの配列の末端に達したときに、各方向におけるワードヒットの延長を停止する。ＢＬＡＳＴアルゴリズムのパラメータＷ、Ｔ、及びＸが、アライメントの感度及び速度を決定する。ＢＬＡＳＴＮプログラム（ヌクレオチド配列について）は、デフォルトとして、ワード長（Ｗ）１１、期待値１０、Ｍ＝５、Ｎ＝－４、及び両方の鎖の比較を使用する。アミノ酸配列については、ＢＬＡＳＴＰプログラムは、デフォルトとして、ワード長（Ｗ）３、期待値（Ｅ）１０、及びＢＬＯＳＵＭ６２スコアリングマトリックスを使用する（Ｈｅｎｉｋｏｆｆ＆Ｈｅｎｉｋｏｆｆ，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ　８９：１０９１５（１９８９）を参照）。

【００９０】

配列同一性パーセントを計算することに加えて、ＢＬＡＳＴアルゴリズムは、２つの配列間の類似性の統計解析も行う（例えば、Ｋａｒｌｉｎ＆Ａｌｔｓｃｈｕｌ，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔ’ｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ　９０：５８７３－５７８７（１９９３）を参照）。ＢＬＡＳＴアルゴリズムによって提供される類似性の１つの尺度は、最小合計確率（Ｐ（Ｎ））であり、これは、２つのヌクレオチド又はアミノ酸配列間の一致が偶然に生じる確率の指標を提供する。例えば、核酸は、試験核酸と参照核酸との比較における最小合計確率が、約０．１未満、より好ましくは約０．０１未満、最も好ましくは約０．００１未満である場合、参照配列に類似しているとみなされる。

【００９１】

２つの核酸配列又はポリペプチドが実質的に同一であることの更なる指標は、以下に記載されるように、第１の核酸によりコードされるポリペプチドが、第２の核酸によりコードされるポリペプチドと免疫学的に交差反応性であることである。したがって、ポリペプチドは、典型的には、第２のポリペプチドと実質的に同一であり、例えば、２つのペプチドは保存的置換によってのみ異なる。２つの核酸配列が実質的に同一である別の指標は、２つの分子がストリンジェントな条件下で互いにハイブリダイズすることである。

【００９２】

インビトロ法

抗体又はその抗原結合断片が固相に結合しているアッセイ、及び抗体が液体媒体の中にあるアッセイを含む、抗体又はその抗原結合断片を用いるイムノアッセイの全ての様式が、現在の好ましい実施形態に係る使用に関して想到されることが理解されるべきである。本発明の特徴を具体化する抗体を使用して、検体を検出するために使用され得るイムノアッセイの方法としては、標識された検体（検体類似体）と試料中の検体とが抗体に対して競い合う競合的（試薬限定）アッセイ、及び抗体が標識された単一部位免疫測定アッセイなどが挙げられるが、これらに限定されない。

【００９３】

本発明による抗体又はその抗原結合断片は、β－アミロイド関連疾患をモニタリングするための生物学的試料、及びＡＰＰの細胞内プロセッシングをモニタリングするための細胞培養からのコンディショニングした培地を含め、存在する場合はどこでもＡβ３ｐＥを検出するために通例の免疫学的技術で使用され得る。適切な免疫学的技術は当業者には周知であり、例えば、ＥＬＩＳＡ、ウエスタンブロット分析、競合又はサンドイッチイムノアッセイ等を含み、これらは全て抗原－抗体免疫複合体の形成に依存することは周知であ

るが、ここでアッセイの目的のために、抗体又はその抗原結合断片は、例えば放射性、酵素、発光又は蛍光標識で検出可能に標識することができ、あるいは抗体又はその抗原結合断片は不溶性担体に固定化することができる。したがって、本発明の目的は、試料中のＡβ３ｐＥ又はその断片の測定又は検出のためのイムノアッセイを提供することであり、この方法は、本発明に従って抗体又はその抗原結合断片を有する試料をＡβ３ｐＥ又はその断片と接触させ、抗体又はその抗原結合断片とＡβ３ｐＥ又はその断片との間に免疫複合体が形成されるかどうかを判断することを含む。これらの方法は組織試料又は体液試料のいずれかで行うことができ、一般に個体の身体から試料を得ること、当該試料を、造影に有効量の検出可能に標識された、本発明による抗体又はその抗原結合断片と接触させること、及び標識を検出して試料中のＡβ３ｐＥ又はその断片の存在を確立することを含む。本発明の抗体又はその抗原結合断片を使用する測定方法は、特に限定されない。抗原の量、特に測定される溶液中のＡβ３ｐＥ又はその断片の量に対応する抗体、抗原又は抗原－抗体複合体の量が化学的又は物理的手段により検出され、既知の量の抗原を含有する標準溶液の使用により調製された標準曲線から算出される限り、任意の測定法を使用してもよい。例えば、比濁法、競合法、免疫測定法、及びサンドイッチ法が好適に使用される。感度及び特異性に関しては、サンドイッチ法を使用することが特に好ましい。

【００９４】

サンドイッチ法では、試験溶液を不溶化された抗Ａβ３ｐＥ抗体などの不溶化抗体と反応させ（第１の反応）、更に、標識された二次抗体を反応させる（第２の反応）。次いで、不溶化担体上の標識剤の活性をアッセイすることにより、試験溶液中のＡβ３ｐＥ又はその断片の量を決定することができる。第１の反応及び第２の反応は、同時に行ってもよいし、連続して行ってもよい。

【００９５】

測定方法では、標識物質、放射性同位体、酵素、蛍光物質、発光物質などを標識剤として使用する。放射性同位体の例としては、^{125}Ｉ、^{131}Ｉ、^{3}Ｈ及び^{14}Ｃが挙げられる。酵素は通常、次いで検出可能な反応を触媒する適切な基質との結合により検出可能とされる。それらの例としては、例えば、β－ガラクトシダーゼ、β－グルコシダーゼ、アルカリホスファターゼ、ペルオキシダーゼ及びマレイン酸デヒドロゲナーゼ、好ましくは西洋ワサビペルオキシダーゼが挙げられる。発光物質としては、例えば、ルミノール、ルミノール誘導体、ルシフェリン、エクオリン及びルシフェラーゼが挙げられる。更に、アビジン－ビオチン系も、本発明の抗体及び免疫原を標識するために使用することができる。免疫原又は抗体が不溶化されている場合、通常、タンパク質又は酵素の不溶化又は固定化に使用する物理的吸着又は化学的結合のいずれかを使用することができる。担体の例としては、アガロース、デキストラン及びセルロースのような不溶性多糖類、ポリスチレン、ポリアクリルアミド及びシリコンポリマーのような合成樹脂、並びにガラスが挙げられる。

【００９６】

β－アミロイド関連疾患を検出又は診断するための更なる実施形態では、組織、体液、例えば、脳脊髄液（ＣＳＦ、血液、血漿、血清、尿等を含む生物学的試料が含まれ、適当量の一次抗体と接触させて免疫複合体を形成する。接触は、典型的には、一次抗体でコーティングされた固体マトリックスに試料を添加することを伴う。試料と一次抗体との接触から生成された複合体は、溶出により試料から分離される。しかしながら、他の回収法を使用してもよい。回収した複合体は、抗原上の抗原決定基に向けられ複合体中の抗原に結合することができる、少なくとも１つの二次抗体と接触させる。二次抗体が向けられる抗原決定基は、抗原実体のマルチエピトープ性により一次抗体が向けられる抗原決定基と同じであってもよい。一次抗体又は二次抗体のいずれかを、上記の標識のいずれかを使用して検出可能にしてもよい。好ましい実施形態では、二次抗体を検出可能とする。一次抗体及び二次抗体に結合した抗原からなる複合体に結合した検出可能な抗体の存在は、当該技術分野において知られている技法を使用して容易に検出され得る。生物学的試料で得られた結果を、対照試料で得られた結果と比較することにより、変化したＡβ３ｐＥの存在又

はその断片レベルが測定され得る。
【００９７】
インビボ法
本発明の態様は、アミロイドーβ関連状態におけるアミロイドーβの沈着を予防、改善、治療、及び／又は減少させるための方法であって、それを必要とする対象に、本明細書に開示される抗体又はその抗原結合断片を治療有効量で投与することを含む、方法に関する。本発明の更なる態様は、本明細書に開示される抗体又はその抗原結合断片を含む、アミロイドーβ関連状態におけるアミロイドの沈着を予防、改善、治療、及び／又は減少させるための医薬組成物を含む。本発明の方法は、有効量の、本明細書に記載される１つ以上の抗体又はその抗原結合断片を、それを必要とする対象に投与することを含む。
【００９８】
一態様において、本発明は、ヒトにおけるβ－アミロイドタンパク質を含有するプラークの形成によって特徴付けられる状態におけるアミロイドーβの沈着を予防、改善、治療、及び／又は減少させる方法に関し、この方法は、治療的又は予防的に有効な量の、ヒトＡβ３ｐＥに特異的に結合する抗体である、本発明による抗体又はその免疫学的に反応性の断片を、そのような治療を必要とするヒトに、好ましくは末梢的に投与することを含む。別の態様では、本発明は、アミロイド斑の形成を阻害する方法、及び／又はヒトにおけるアミロイド斑を除去する方法に関し、この方法は、抗体が脳内のＡβ３ｐＥペプチドを隔離し、脳内における変化したＡβ３ｐＥクリアランスを誘導する、本発明による有効量の抗体を、そのような阻害又は除去を必要とするヒト対象に投与することを含む。更なる態様では、本発明は、免疫学的に有効な部分を含む、そのようなヒト化抗体、及びそれらの調製のための方法に関する。
【００９９】
それを必要とする対象は、βアミロイドタンパク質を含有するプラークの形成によって特徴付けられる状態に罹患しているか、又は罹患する素因のあるヒトである。一実施形態において、その状態はアルツハイマー病である。他の実施形態では、その状態は、トリソミー２１（ダウン症候群）、びまん性レビー小体病、封入体筋炎、脳アミロイド血管症、又はオランダ型アミロイドーシスを伴う遺伝性脳出血（ＨＣＨＷＡ－Ｄ）に関連する認知症である。
【０１００】
ヒト化抗体は、ヒトにおいて自然に産生される抗体変異体との類似性を増加させるためにタンパク質配列が修飾された非ヒト種由来の抗体である。概して、ヒト化抗体のタンパク質配列は、抗体がその標的抗原に結合する能力に関与する、非ヒト起源のその相補性決定領域（ＣＤＲ）セグメントの一部又は全てを除いて、ヒト変異体のタンパク質配列と本質的に同一である。可変領域のフレームワーク領域は、対応するヒトフレームワーク領域によって置換され、非ヒトＣＤＲは実質的に無傷のままである。いくつかの場合において、ヒト化抗体は、非ヒト抗体の結合親和性及び／又は解離定数を保持するために、非ヒトＣＤＲ領域のうちの１つ以上において少数の置換を有する。
【０１０１】
またヒト化抗体は、ヒトフレームワークと、非ヒト抗体からの少なくとも１つのＣＤＲと、を含む抗体を指し、これは存在する任意の定常領域がヒト免疫グロブリン定常領域と実質的に同一である、すなわち、少なくとも約８５％、９０％、好ましくは、少なくとも９５％が同一又は９８％が同一である。したがって、ヒト化抗体の全ての部分（１つ以上のＣＤＲを除く）は、ヒト免疫グロブリン配列の対応する部分と実質的に同一である。例えば、ヒト化免疫グロブリンは、典型的にはキメラマウス可変領域／ヒト定常領域抗体を包含しない。
【０１０２】
ヒト化抗体は、ヒトの治療に使用するために非ヒト及びキメラ抗体よりも少なくとも３つの潜在的な利点を有する：１）エフェクタ部分がヒトであるので、ヒト免疫系の他の部分とより良く相互反応することができる（例えば、ミクログリアを活性化して、プラーク

を除去する）、２）ヒトの免疫系はヒト化抗体のフレームワーク又はＣ領域を外来とは認識しないはずなので、そのような投与された抗体に対する抗体応答は、全部が外来の非ヒト抗体又は部分的に外来のキメラ抗体に対するよりも低いはずである、３）投与された非ヒト抗体は、ヒトの循環においてヒト抗体の半減期よりも短い半減期を有すると報告されている。

【０１０３】

β－アミロイドタンパク質を含むプラークの形成を特徴とする状態を治療又は防止するための方法において、本発明の抗体又はその抗原結合断片（免疫学的に反応性の断片を含む）は、臨床的又は症状発現前のアルツハイマー病、ダウン症候群に関連する認知症、又は臨床的又は症状発現前のアミロイド血管症のようなアミロイドβ関連症状又は病状の危険性があるか、それらを現す個体に、標準的な投与技術を使用して投与される。好ましくは、末梢に（すなわち中枢神経系に投与するものではない）、静脈内、腹腔内、皮下、肺、経皮、筋肉内、鼻内、頬内、舌下、又は坐薬投与により投与される。抗体又はその結合断片は、脳室系、脊髄液又は脳実質に直接投与してもよく、これらの位置へ向けた技術は当該技術分野では周知であるが、これらのより複雑な手法を利用する必要はない。本発明の抗体又はその結合断片は、末梢循環系に依る、より単純な技術により投与するときに効果的である。本発明の利点は、たとえ中枢神経系自体に直接提供されなくても、抗体又はその抗原結合断片がその有利な効果を発揮する能力を含む。

【０１０４】

投与のための医薬組成物は、選択された投与様式に適するように設計され、分散剤、緩衝剤、界面活性剤、防腐剤、可溶化剤、等張剤、安定剤などの医薬的に許容される賦形剤が適切な場合に使用される。参照により本明細書に組み込まれる、Ｒｅｍｉｎｇｔｏｎ’ｓ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ Ｓｃｉｅｎｃｅｓ，Ｍａｃｋ Ｐｕｂｌｉｓｈｉｎｇ Ｃｏ．，Ｅａｓｔｏｎ Ｐａ．，ｌａｔｅｓｔ ｅｄｉｔｉｏｎは、一般に熟練者に知られているような処方技術の概論を提供する。

【０１０５】

例えば、リポソーム中にそれらを封入することによって、又は極性基を遮断することによって、それらをより親油性にして、本発明の抗体の溶解度特性を変更することは、特に有用であり得る。

【０１０６】

静脈内又は腹腔内又は皮下注射による末梢全身送達が好ましい。そのような注射のための好適なビヒクルは簡単である。しかしながら、更に、投与はまた、鼻エアロゾル又は坐薬によって粘膜を通して行ってもよい。そのような投与形態に好適な製剤は周知であり、典型的には、膜間移動を促進する界面活性剤を含む。そのような界面活性剤は、多くの場合、ステロイド類に由来するか、又はＮ－［１－（２，３－ジオレオイル）プロピル－Ｎ，Ｎ，Ｎ－トリメチルアンモニウムクロリド（ＤＯＴＭＡ）などのカチオン性脂質、又はコレステロールヘミサクシネート、ホスファチジルグリセロールなどの様々な化合物である。

【０１０７】

製剤中のヒト化抗体の濃度は、わずか約０．１％～約１５又は２０重量％まで、主に流体体積、粘度等に基づき、選択した特定の投与様式に従って選択される。したがって、注射用の典型的な医薬組成物は、リン酸緩衝生理食塩水の１ｍＬの滅菌緩衝水、及び１～１００ｍｇの本発明のヒト化抗体を含有するように作製され得る。製剤は、製剤を作製した後に滅菌ろ過されてもよく、又は別の方法で微生物学的に許容可能にされてもよい。静脈内注入用の典型的な組成物は、２５０ｍＬの流体、例えば、滅菌リンガー溶液の体積、及び１ｍＬあたり１～１００ｍｇ／ｍＬ以上の抗体濃度を有し得る。

【０１０８】

抗体の投与について、投与量は、宿主の体重に対して、約０．０００１～１００ｍｇ／ｋｇ、好ましくは０．０１～７５ｍｇ／ｋｇの範囲である。例えば、投与量は、宿主の体重に対して、０．０２ｍｇ／ｋｇ、０．２５ｍｇ／ｋｇ、０．５ｍｇ／ｋｇ、０．７５ｍ

ｇ／ｋｇ、１ｍｇ／ｋｇ、２ｍｇ／ｋｇ、３ｍｇ／ｋｇ、４ｍｇ／ｋｇ、５ｍｇ／ｋｇ、１０ｍｇ／ｋｇ、１５ｍｇ／ｋｇ、２０ｍｇ／ｋｇ、２５ｍｇ／ｋｇ、２０ｍｇ／ｋｇ、３５ｍｇ／ｋｇ、４０ｍｇ／ｋｇ、４５ｍｇ／ｋｇ、５０ｍｇ／ｋｇ、５５ｍｇ／ｋｇ、６０ｍｇ／ｋｇ、６５ｍｇ／ｋｇ、７０ｍｇ／ｋｇ、又は７５ｍｇ／ｋｇであり得る。実施形態において、投与量は、０．０１～１０ｍｇ／ｋｇの範囲内、又は０．１～１５ｍｇ／ｋｇの範囲内、又は０．１～２０ｍｇ／ｋｇの範囲内、又は０．１～３０ｍｇ／ｋｇの範囲内、又は０．１～４０ｍｇ／ｋｇの範囲内であり、又は０．１～５０ｍｇ／ｋｇの範囲内、又は０．１～６０ｍｇ／ｋｇの範囲内、好ましくは、少なくとも１ｍｇ／ｋｇ、少なくとも５ｍｇ／ｋｇ、少なくとも１０ｍｇ／ｋｇ、少なくとも２０ｍｇ／ｋｇ、少なくとも３０ｍｇ／ｋｇ、少なくとも４０ｍｇ／ｋｇ、少なくとも５０ｍｇ／ｋｇ、又は少なくとも６０ｍｇ／ｋｇである。好ましい例では、投与量は、約１０ｋｇ／ｍｇ、約２０ｋｇ／ｍｇ、約３０ｋｇ／ｍｇ、約４０ｍｇ／ｋｇ、約５０ｍｇ／ｋｇ、約６０ｍｇ／ｋｇ、又は約７０ｍｇ／ｋｇであり得る。特に好ましい例では、抗体は、約０．３ｍｇ／ｋｇ～約６０ｍｇ／ｋｇの用量範囲で腹腔内投与される。例示的な治療レジメンにおいて、抗体は、約１０ｋｇ／ｍｇ、約２０ｋｇ／ｍｇ、約３０ｋｇ／ｍｇ、約４０ｍｇ／ｋｇ、約５０ｍｇ／ｋｇ、又は約６０ｍｇ／ｋｇの投与量で腹腔内投与される。

【０１０９】

本明細書で使用する場合、量などの測定可能な値に関して使用する「約」という用語は、±２０％～±０．１％、好ましくは±１５％又は±１０％、より好ましくは±５％、更により好ましくは±１％、いっそうより好ましくは±０．５％、±０．１％の変動を包含することを意味する。このような、特定の値から±０．０５％又は±０．０１％の変動は、適切なものである。

【０１１０】

例示的な治療レジメンは、２週間に１回又は１ヶ月に１回又は３～６ヶ月に１回の投与を伴う。いくつかの方法において、結合特異性の異なる２つ以上のモノクローナル抗体が同時に投与され、このとき、投与される各抗体の投与量は、指示された範囲内にある。抗体は通常、複数回にわたって投与される。投与と投与との間の間隔は、毎週、毎月、又は毎年であり得る。間隔は、不規則にすることもでき、これは対象におけるＡβに対する抗体の血中レベルを測定することによって示される。あるいは、抗体は、徐放性製剤として投与することができ、この場合、必要な投与の頻度が少なくなる。投与量及び頻度は、患者における抗体の半減期に応じて変わる。一般に、ヒト抗体は最長の半減期を示し、続いてヒト化抗体、キメラ抗体、及び非ヒト抗体の順である。

【０１１１】

投与量及び投与頻度は、治療が予防的であるか治癒的であるかどうかによって異なり得る。予防的用途においては、比較的低用量の投与が、比較的低頻度の間隔で、長期間にわたって投与される。一部の対象は、生涯にわたって治療を受け続ける。治癒的用途では、疾患の進行が減少又は停止するまで、好ましくは対象が疾患の症状の部分的又は完全な寛解を示すまで、比較的短い間隔で比較的高用量の投与が必要となり得る。その後、予防レジメンが投与され得る。

【０１１２】

いくつかの方法では、投与量は、血漿抗体濃度が約１～１０００μｇ／ｍＬになるように、またいくつかの方法では、約２５～３００μｇ／ｍＬになるように、投与される。あるいは、抗体は、徐放性製剤として投与することができ、この場合、必要な投与の頻度が少なくなる。投与量及び頻度は、対象における抗体の半減期に応じて変わる。

【０１１３】

本発明の抗体による治療は、単独治療であってもよい。あるいは、本発明の抗体による治療は、個体を治療する１つ以上の追加の治療薬も使用する、併用療法レジメンの１つの構成要素又は段階であってもよい。

【０１１４】

インビボ療法に使用される場合、本発明の抗体又はその抗原結合断片は、治療有効量、

例えば、β－アミロイドプラークを減少、除去、若しくは予防するか、又はＡＤ若しくは他のβ－アミロイド関連疾患を有する対象における認知機能を改善する量で個体に投与される。抗体又はその抗原結合断片は、静脈内投与、例えば、ボーラスとして又はある期間にわたる連続注入によって、筋肉内、腹腔内、脳脊髄内、皮下、関節内、滑液内、髄腔内、経口、局所又は吸入経路によってなどの既知の方法に従って個体に投与される。本発明の薬剤は、所望により、アミロイドジェニック疾患の治療に少なくとも部分的に有効な他の薬剤と組み合わせて投与され得る。アルツハイマー病、及び脳内にアミロイド沈着物が生じる関連状態の場合、本発明の抗体又はその抗原結合断片は、血液脳関門を横切る本発明の薬剤の通過を増加させる他の薬剤と併用して投与され得る。

【０１１５】

本発明の一実施形態では、本発明の抗体又はその抗原結合断片は、プラーク沈着物中の３ｐＥ　Ａβに結合する。プラーク沈着物中の３ｐＥ　Ａβに結合することにより、抗体又はその抗原結合断片は、プラークの除去を誘発することができる。プラークの除去の誘発は、プラーク周囲の微小膠の活性化、及び安定したＡβ形態を除去することによるプラークの不安定化によるものであってよい。更に、本発明の抗体又はその抗原結合断片は、３ｐＥ　Ａβのプラークシーディング活性を防止し得る。血管アミロイドと比較してプラーク中の３ｐＥ　Ａβの可能な濃縮は、免疫療法のための治療上の安全性の範囲を増大させ得る。

【０１１６】

キット及びデバイス

本発明は、上述の方法で使用することができるキット及びデバイスを提供する。好ましくは、キット及びデバイスは、３ｐＥ　Ａβに結合する抗体又はその抗原結合断片を含む。更に、キットは、試薬及び指示書を含んでもよい。使用説明書は、例えば、紙に印刷されてもよく、かつ／又は電子可読媒体において提供されてもよい。あるいは、使用説明書は、例えば、キットの製造業者又は流通業者によって指定されたインターネットウェブサイトにユーザを誘導することによって提供されてもよい。

【０１１７】

本発明のキットに含まれる試薬は、成分自体が容器の材料によって実質的に吸着又は変更されない一方で、様々な成分の活性が実質的に失われないように、あらゆる種類の容器で供給され得る。

【０１１８】

一実施形態において、キット又はデバイスは、本発明の抗体又はその抗原結合断片、好ましくは精製された抗体、より好ましくはモノクローナル抗体、更により好ましくは３ｐＥ　Ａβペプチドに結合する単離モノクローナル抗体を含む。実施形態において、抗体は、ハイブリドーマ細胞によって発現される。

【０１１９】

実施形態

実施形態１は、

ａ．　それぞれ、配列番号１、２、３、４、５、及び６、

ｂ．　それぞれ、配列番号１、７、３、４、５、及び６、

ｃ．　それぞれ、配列番号１、７、３、８、５、及び６、

ｄ．　それぞれ、配列番号１、２、３、８、５、及び６、

ｅ．　それぞれ、配列番号５６、５７、３、８、５、及び６、

ｆ．　それぞれ、配列番号５６、５７、３、４、５、及び６、

ｇ．　それぞれ、配列番号５６、５８、３、４、５、及び６、

ｈ．　それぞれ、配列番号５６、７、３、８、５、及び６、

ｉ．　それぞれ、配列番号１、５７、３、８、５、及び６、

ｊ．　それぞれ、配列番号５６、７、３、４、５、及び６、

ｋ．　それぞれ、配列番号１、５７、３、４、５、及び６、

ｌ．　それぞれ、配列番号１、５８、３、４、５、及び６、又は

ｍ．　それぞれ、配列番号５６、２、３、４、５、及び６のポリペプチド配列を有する、重相補性決定領域１（ＨＣＤＲ１）、ＨＣＤＲ２、ＨＣＤＲ３、軽鎖相補性決定領域１（ＬＣＤＲ１）、ＬＣＤＲ２、及びＬＣＤＲ３を含む単離モノクローナル抗体又はその抗原結合断片であって、抗体又はその抗原結合断片は、３ｐＥ　Ａβ、好ましくはヒト３ｐＥＡβに特異的に結合する、単離モノクローナル抗体又はその抗原結合断片である。

【０１２０】

実施形態２は、配列番号９、１１、１３、１５、１６、１７、１９、２０、若しくは２１と少なくとも９５％同一のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、又は配列番号１０、１２、１４、１８、２２、５３、若しくは５５と少なくとも９５％同一のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域を含む、実施形態１に記載の単離モノクローナル抗体又はその抗原結合断片である。

【０１２１】

実施形態３は、

ａ．　配列番号２１のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域及び配列番号２２のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域、

ｂ．　配列番号９のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域及び配列番号１０のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域、

ｃ．　配列番号１１のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域及び配列番号１２のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域、

ｄ．　配列番号１３のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域及び配列番号１４のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域、

ｅ．　配列番号１５のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域及び配列番号１４のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域、

ｆ．　配列番号１６のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域及び配列番号１４のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域、

ｇ．　配列番号２０のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域及び配列番号１４のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域、

ｈ．　配列番号１７のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域及び配列番号１８のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域、

ｉ．　配列番号１９のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域及び配列番号１８のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域、

ｊ．　配列番号２１のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域及び配列番号５３のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域、又は

ｋ．　配列番号２１のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域及び配列番号５５のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域を含む、実施形態１に記載の単離モノクローナル抗体又はその抗原結合断片である。

【０１２２】

実施形態４は、単離モノクローナル抗体又はその抗原結合断片がキメラである、実施形態１～３のいずれか１つに記載の単離モノクローナル抗体又はその抗原結合断片である。

【０１２３】

実施形態５は、単離モノクローナル抗体又はその抗原結合断片がヒトである又はヒト化されている、実施形態１～４のいずれか１つに記載の単離モノクローナル抗体又はその抗原結合断片である。

【０１２４】

実施形態６は、

ａ．　配列番号３７を含む重鎖アミノ酸配列及び配列番号３８を含む軽鎖アミノ酸配列、

ｂ．　配列番号３９を含む重鎖アミノ酸配列及び配列番号３８を含む軽鎖アミノ酸配列、

ｃ．　配列番号３７を含む重鎖アミノ酸配列及び配列番号５２を含む軽鎖アミノ酸配列、又は

ｄ．　配列番号３９を含む重鎖アミノ酸配列及び配列番号５４を含む軽鎖アミノ酸配列

を含む、単離モノクローナル抗体である。
【０１２５】
実施形態７は、実施形態１～６のいずれか１つに記載のモノクローナル抗体又はその抗原結合断片をコードしている単離核酸である。
【０１２６】
実施形態８は、実施形態７に記載の単離核酸を含むベクターである。
【０１２７】
実施形態９は、実施形態８に記載のベクターを含む宿主細胞である。
【０１２８】
実施形態１０は、実施形態１～６のいずれか１つに記載の単離モノクローナル抗体又はその抗原結合断片と、医薬的に許容される担体と、を含む、医薬組成物である。
【０１２９】
実施形態１１は、それを必要とする対象においてβ－アミロイドタンパク質を含有するプラークの形成に関連する状態を治療する方法であって、方法は、実施形態１～６のいずれか１つに記載のモノクローナル抗体若しくはその抗原結合断片、又は実施形態１０に記載の医薬組成物を、必要とする対象に投与することを含む、方法である。
【０１３０】
実施形態１２は、状態がアルツハイマー病である、実施形態１１に記載の方法である。
【０１３１】
実施形態１３は、状態が、トリソミー２１（ダウン症候群）に関連する認知症、びまん性レビー小体病、封入体筋炎、脳アミロイド血管症、オランダ型アミロイドーシスを伴う遺伝性脳出血（ＨＣＨＷＡ－Ｄ）からなる群から選択される、実施形態１１に記載の方法である。
【０１３２】
実施形態１４は、それを必要とする対象においてアルツハイマー病に関連するプラークを減少させる方法であって、方法は、実施形態１～６のいずれか１つに記載のモノクローナル抗体若しくはその抗原結合断片、又は実施形態１０に記載の医薬組成物を、必要とする対象に投与することを含む、方法である。
【０１３３】
実施形態１５は、それを必要とする対象において３ｐＥ　Ａβのシーディング活性を防止する方法であって、方法は、実施形態１～６のいずれか１つに記載のモノクローナル抗体若しくはその抗原結合断片、又は実施形態１０に記載の医薬組成物を、必要とする対象に投与することを含む、方法である。
【０１３４】
実施形態１６は、実施形態１～６のいずれか１つに記載のモノクローナル抗体又はその抗原結合断片を生成する方法であって、モノクローナル抗体又はその抗原結合断片を生成する条件下で、モノクローナル抗体又はその抗原結合断片をコードしている核酸を含む細胞を培養することと、抗体又はその抗原結合断片を回収することと、を含む、方法である。
【０１３５】
実施形態１７は、実施形態１～６のいずれか１つに記載のモノクローナル抗体又はその抗原結合断片を含む医薬組成物を製造する方法であって、方法は、モノクローナル抗体又はその抗原結合断片を医薬的に許容される担体と組み合わせて、医薬組成物を得ることを含む、方法である。
【実施例】
【０１３６】
本発明は、以下の非限定的な実施例を考察することによって更に理解され得る。
【０１３７】
実施例１：モノクローナル抗体の産生及びヒト化プロセス
３匹のＢａｌｂ／ｃマウス（Ｊａｎｖｉｅｒ　Ｌａｂｓ）を、完全フロイントアジュバント（Ｓｉｇｍａ（Ｓｔ．Ｌｏｕｉｓ、ＭＯ））中のＨ２Ｎ－ｐＥＦＲＨＤＳＧＣ－ＣＯ

ＯＨ（Ｅｕｒｏｇｅｎｔｅｃ）（配列番号４７）で初回免疫した。ＣＯＯＨ－末端システイン残基を介して、製造元の取扱説明書に従ってＩｍｊｅｃｔ　Ｍａｌｅｉｍｉｄｅ　Ａｃｔｉｖａｔｅｄ　ＢＳＡキット（Ｐｉｅｒｃｅ（Ｒｏｃｋｆｏｒｄ、ＩＬ））などの市販のキットを使用して、マレイミド活性化ウシ血清アルブミン（Ｌｉｆｅ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ（Ｃａｒｌｓｂａｄ、ＣＡ））にペプチドをカップリングさせることによってペプチドを調製した。マウスを、最初は完全フロイントアジュバント、続いて不完全フロイントアジュバント（Ｓｉｇｍａ）中の１００μｇ又は２００μｇのＢＳＡにカップリングしたペプチドで２週間ごとに追加免疫した。

【０１３８】

ハイブリドーマ及び抗体の産生：最も高い血清力価を示すマウスを、融合のために選択し、一方、他のマウスの脾臓を単離し、液体窒素中で凍結させた。４日目、融合又は脾臓摘出前に、全てのマウスを、生理食塩水中のＢＳＡ（Ｍｅｒｃｋ（Ｋｅｎｉｌｗｏｒｔｈ、ＮＪ））にカップリングされた１００μｇのＨ２Ｎ－ｐＥＦＲＨＤＳＧＣ－ＣＯＯＨ（配列番号４７）で腹腔内に追加免疫した。マウス脾臓細胞を、Ｋｏｈｌｅｒ及びＭｉｌｓｔｅｉｎ（Ｅｕｒｏ．Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．，１９７６；２９２－２９５）の改変手順によってＳＰ２／０細胞（ＡＴＣＣ（Ｍａｎａｓｓａｓ、ＶＡ））と融合させた。ハイブリドーマを３０ｘ９６ウェルプレートにシーディングし、１０日後に、０．５μｇ／ウェルのカップリングしていないＡβ　３ｐＥ－４０ペプチド（ＡｎａＳｐｅｃ（Ｆｒｅｍｏｎｔ、ＣＡ））で直接ＥＬＩＳＡでスクリーニングした。陽性細胞を、０．５μｇ／ｍＬのコーティングされたＡβ１－４０ペプチド（ＡｎａＳｐｅｃ）で交差反応性（の欠如）について試験し、直ちにサブクローニングした。

【０１３９】

融合後、１７個のクローンがヒトＡβ３ｐＥ－４０合成ペプチド（配列番号４０）を用いて直接コーティングされたＥＬＩＳＡスクリーニングにおいて陽性として反応し、液体窒素中で凍結させた。

【０１４０】

全てのハイブリドーマを、１０％ウシ胎仔血清（Ｈｙｃｌｏｎｅ（Ｅｕｒｏｐｅ））、Ｈｙｂｒｉｄｏｍａ　Ｆｕｓｉｏｎ　Ｃｌｏｎｉｎｇ　Ｓｕｐｐｌｅｍｅｎｔ（２％）（Ｒｏｃｈｅ（Ｂｒｕｓｓｅｌｓ、Ｂｅｌｇｉｕｍ））、２％ＨＴ（Ｓｉｇｍａ）、１ｍＭピルビン酸ナトリウム、２ｍＭＬ－グルタミン及びペニシリン（１００Ｕ／ｍＬ）及びストレプトマイシン（５０ｍｇ／ｍＬ）を補充したダルベッコ改変イーグル培地で培養した。全ての製品は市販されており、Ｌｉｆｅ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓから購入した。加湿した８％CO_2エアーインキュベーター内で細胞をインキュベートした。

【０１４１】

抗体の選択のための直接ＥＬＩＳＡ：上記Ａβ　３ｐＥ－４０抗体の検出に使用したスクリーニングＥＬＩＳＡは、０．５μｇ／ｍＬの遊離ヒトＡβ　３ｐＥ－４０ペプチド（配列番号４０）を４℃にて一晩、５０μＬ／ウェルのコーティング緩衝液（１０ｍＭ　Ｔｒｉｓ、１０ｍＭ　ＮａＣｌ及び１０ｍＭ　NaN_3、ｐＨ８．５）中でＮＵＮＣ　Ｍａｘｉｓｏｒｐ（Ｌｉｆｅ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ）平底高結合９６ウェルマイクロタイタープレートにコーティングした直接ＥＬＩＳＡであった。

【０１４２】

翌日、室温で６０分間、７５μＬ／ウェルのＰＢＳ中０．１％カゼイン（Ｍｅｒｃｋ）でプレートをブロッキングして、非特異的結合を減少させた。次に、５０μＬのハイブリドーマ上清を添加し、３７℃で１時間インキュベートした。洗浄後、結合したモノクローナル抗体を、３７℃で１時間、５０μＬ／ウェルの西洋ワサビペルオキシダーゼ（Ａｍｅｒｓｈａｍ－Ｐｈａｒｍａｃｉａ　Ｂｉｏｔｅｃｈ（Ｌｉｔｔｌｅ　Ｃｈａｌｆｏｎｔ、Ｕｎｉｔｅｄ　Ｋｉｎｇｄｏｍ））と複合体化したヒツジ抗マウスＩｇＧで検出した。両試薬を０．１％カゼイン／ＰＢＳで希釈した。プレートを洗浄し、５０μＬの、０．４２ｍＭの３，５，３’，５’－テトラメチル－ベンジジン（Ｂｉｏｒａｄ）、０．００３％（容量／容量）のH_2O_2（Ｂｉｏｒａｄ）（１００ｍＭのクエン酸（Ｂｉｏｒａｄ（Ｈｅｒ

ｃｕｌｅｓ、ＣＡ））中）、１００mMのリン酸水素二ナトリウム（ｐＨ４．３）（Ｂｉｏｒａｄ）の溶液を基質として添加した。室温でプレートシェーカー上で最大１５分間反応を進行させ、その後、５０μＬ／ウェルの２Ｎ H_2SO_4（Ｍｅｒｃｋ）で顕色を停止させ、マイクロタイタープレートリーダーで４５０ｎｍにてプレートを読み取った（Ｔｈｅｒｍｏｍａｘ，Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｄｅｖｉｃｅｓ）。選択したモノクローナル抗体と完全サイズのヒト遊離Ａβ　１－４０との交差反応性は、スクリーニングアッセイと同一の直接ＥＬＩＳＡで試験した。

【０１４３】

１７個のＡβ３ｐＥ－４０－反応性クローンから、親和性及び選択性に基づいて更なる特性評価のためにＢＡＭＢ３１＿１を選択した（実施例２及び実施例３参照）。この抗体は、マウスＩｇＧ１アイソタイプ重鎖及びマウスκ軽鎖を有すると判定された。マウスＩｇＧ１　Ｆｃは、マウスＩｇＧ２ａ　Ｆｃに対して７０％の配列同一性及び７６％の配列類似性のみを有するが、これらのアイソタイプは、異なる活性及びタンパク質プロファイルを有する。マウスＩｇＧ２ａと比較して、マウスＩｇＧ１は、マウスＦｃγＲＩ、ＦｃγＲＩＩＩ、及びＦｃγＲＩＶ受容体並びにマウスＣ１ｑへのより弱い結合により、マウスＦｃエフェクタ及び補体機能が弱い。ヒトＩｇＧ１活性に最も近いアイソタイプであると考えられるため、マウスＩｇＧ２ａは、マウスＦｃγＲＩ、ＦｃγＲＩＩＩ、及びＦｃγＲＩＶ受容体並びにマウスＣ１ｑに結合することによって、Ａβプラークのクリアランスに寄与し得る、補体、抗体依存性細胞障害（antibody-dependent cellular cytotoxicity、ＡＤＣＣ）、及び抗体依存性細胞食作用（antibody-dependent cellular phagocytosis、ＡＤＣＰ）活性を有する。

【０１４４】

ＢＡＭＢ３１重鎖の配列を、マウスＩｇＧ１からマウスＩｇＧ２ａに変更して、ＢＡＭＢ３１＿２ａを生成した。Ｖ領域クローニング後の反応性の保存を、以下に記載のＳＰＲ法により確認した。

【０１４５】

ヒト化プロセス：本作業のために、ＡｂＭ定義（Ｍａｒｔｉｎ，Ａ．Ｃ．，ＰＮＡＳ８６：９２６８－９２７７、１９８９）に従って線引きされたＣＤＲ－Ｈ２を除いて、Ｓｉｎｇｈ，ｅｔ．ａｌ（ＭＡｂｓ２０１５；７（４）：７７８－９１）と同様の手順を使用して親抗体ＢＡＭＢ３１＿２ａ（ｍＩｇＧ２ａ）をヒト化した。簡潔に述べると、相補性決定領域（ＣＤＲ）をマウス親配列において同定した。これらの配列をヒト生殖細胞系及び４つのヒト生殖細胞系重鎖と比較し、２つのヒト生殖系軽鎖フレームワークを選択し、フレームワークにマウスＣＤＲを移植した。マウスＪセグメント配列とヒトＪセグメント配列を比較することによって、各親抗体のＶＬ及びＶＨに対するヒトＪセグメントを選択し、配列同一性を最大化した。親ｍＡｂのＦｖ領域の分子モデルを、デフォルトパラメータを使用するＭＯＥ（ＣＣＧ（Ｍｏｎｔｒｅａｌ、Ｃａｎａｄａ））において生成した。得られたモデルをグラフにより検討して、結合及び／又は抗体安定性にとって潜在的に重要なフレームワーク位置を同定した。これらの位置が、移植されたＣＤＲに加えてヒト／マウス二値組み合わせを有する抗体ライブラリを作成した。ライブラリでは、移植されたマウスＣＤＲを有する各鎖を、反対側のマウス親の鎖と対にした。このようにして、１つの鎖のみがヒトフレームワークに適合され、抗原結合に基づいて復帰突然変異が決定された。次いで、ヒト化ＶＨ及びＶＬを組み合わせて、最終抗体候補に到達した。

【０１４６】

ライブラリクローンを大腸菌中のＦａｂとして発現させ、完全なマウス親分子と比較したシグナル及びＥＬＩＳＡによってペプチドへの結合について試験した。マウス親の８０％を超える結合を示す分子シグナルが、配列決定のために選択された。配列を分析し、ヒト適合化重鎖及びヒト適合化軽鎖を選択して組み合わせて、モノクローナルヒトＩｇＧ１抗体として発現させた。各抗体の全てのＶＨ／ＶＬヒト化対を発現させ、精製し、抗原結合、Ｅｐｉｖａｘ　ｉｎ　ｓｉｌｉｃｏの免疫遺伝学的リスク、マウス配列に復帰変異した残基の数、及び生物物理的特性について評価した。

【０１４７】

結果：親の結合を保持するために、一部の残基をマウス配列に復帰変異させる必要があった。結合の保持、Ｅｐｉｖａｘ　ｉｎ　ｓｉｌｉｃｏの免疫遺伝学的リスク、及び生物物理的特性は、マウス配列への復帰変異の数に依存しなかったが、その位置はマウス配列に復帰変異した。この分析からの代表的なＨＦＡ　ｍＡｂ特性評価の結果を表２及び表３に示す。

【０１４８】

【表２】

表２：ＢＡＭＢ３１　ＨＦＡ特性評価の結果の例

試料 範囲:	マウス配列に復帰変異された残基の総数 ０～７	Epivax Ｖ領域合成スコア －５３．４６～ －１３．６２	SEC （％モノマー） ８４～９９	KD（M） １．１７　Ｅ－１１～ １．５２　Ｅ－０９	Tonset （℃） ５３．９～ ６２．５	Tm1（℃） ６０．７～ ６９．１	Tagg（℃） ６１．７～ ７０．６
BAMB246	NA	５．２５	９６	１．３９Ｅ－１１	６０．７	６７．４	６９．４
BAMB611	０	－５３．４６	９７	１．５２Ｅ－０９	６２．５	６９．１	７０．６
BAMB612	４	－２０．７７	９８	１．１７Ｅ－１１	６２．１	６６．７	６７．６
BAMB613	４	－３９．５９	９７	１．８２Ｅ－１１	５９．３	６５．４	６６．４
BAMB614	３	－３９．７７	９８	１．６０Ｅ－１１	６１．８	６６．６	６７．６
BAMB630	７	－１３．８８	９８	３．８３Ｅ－１１	５８．４	６４．６	６４．７
BAMB631	４	－１４．３１	９７	１．８０Ｅ－１１	５８．８	６４．４	６５．０
BAMB623	５	－３１．４７	８４	１．８３Ｅ－１１	５４．８	６２．０	６２．７

ＢＡＭＢ２４６親ヒトＩｇＧ１キメラ

所望の範囲外の値は太字で記載されている。マウス配列に復帰変異した残基の総数≧５、Ｈｃ及びＬｃのＥｐｉｖａｘリスクスコア＞－１０、Ｖ領域合成Ｅｐｉｖａｘリスクスコア＞－２０、ＳＥＣ％モノマー値＜９５％ｋｄ（１／ｓ）値＞１．００Ｅ－０４、ＫＤ（Ｍ）値＞２．５０Ｅ－１１、Ｔｏｎｓｅｔ（℃）＜６０、Ｔｍ１（℃）＜６５、Ｔａｇｇ（℃）＜６５

【０１４９】

翻訳後修飾リスクの軽減：親抗体及びヒトフレームワーク適合化変異体は、ＨＣＤＲ２におけるＮＧ翻訳後脱アミド化修飾モチーフを含有していた。この潜在的な問題に対処するために、縮合オリゴを使用してＮ残基及びＧ残基の両方について個々のライブラリを作成した。これらの作成された新しい配列は、ランダムに各位置に対して全て２０個のアミノ酸を導入する。各ライブラリを、保持された結合についてスクリーニングした。マウス親と同様の結合を示す変異抗体を、配列決定のために選択した。

【０１５０】

結果：配列決定後、Ｎ～Ｓ変異体及びＮ～Ｇ変異体の両方が親に匹敵する結合を有した。リードＨＦＡ変異体をクローニングし、野生型ＩｇＧ１（ＢＡＭＡＢ６７４）として発現させ、Ｆｃ領域にＭ３７Ｙ、Ｓ３９Ｔ、及びＴ４１Ｅ点変異を有するＩｇＧ１（Ｈｃ定常領域Ｆｃ　ＩｇＧ１重鎖定常領域配列ＧｅｎＢａｎｋ受託番号ＡＥＶ４３３２３に基づく番号付け）を＋ＹＴＥ　ＩｇＧ１（ＢＡＭＢ６７５）と命名した。これらの変異は、ＦｃＲｎに対する親和性を増加させ、循環半減期を増加させることが知られている（Ｐｒｏｐｅｒｔｉｅｓ　ｏｆ　Ｈｕｍａｎ　ＩｇＧ１ｓ　Ｅｎｇｉｎｅｅｒｅｄ　ｆｏｒ　Ｅｎｈａｎｃｅｄ　Ｂｉｎｄｉｎｇ　ｔｏ　ｔｈｅ　Ｎｅｏｎａｔａｌ　Ｆｃ　Ｒｅｃｅｐｔｏｒ（ＦｃＲｎ），Ｄａｌｌ’Ａｃｑｕａ　ＷＦ．，ＪＢＣ，２００６）。ＢＡＭＢ６７４及びＢＡＭＢ６７５の特性評価を表３に示す。

【０１５１】

【表３】

表３：ＢＡＭＢ６７４及びＢＡＭＢ６７５の特性評価

特性	BAMB674	BAMB675
アイソタイプ	wt IgG1	＋YTE IgG1
Hc FW	IGHV1－46*03	IGHV1－46*03
マウス残基を必要とするHc FWの位置	M48I、M70L	M48I、M70L
Hc CDR2のNGモチーフ緩和	N55S	N55S
Lc FW	IGKV2－30*01	IGKV2－30*01
マウス残基を必要とするLc FWの位置	V109L	V109L
Lc CDR1のNGモチーフ緩和	NG→RA	NG→RA
KD（pM）	25．4	25．7
Tm onset	62．9℃	57．7℃
Tm1	67．3℃	64．1℃
Tagg	68．4℃	67．7℃
SEC%モノマー	97	98
高濃度安定＞2週間	＞100mg／mL	＞100mg／mL

【０１５２】

【表４】

表３ａ：熱安定性

試料	Ｔ－onset平均（℃）	Tm1平均（℃）	Tagg平均（℃）	Ｔ－onset ST DEV	Tm1 ST DEV	Tagg ST DEV
対照mAb	63．8	69．8	80．6	0．092	0．016	0．001
BAMB700	61．4	67．4	70．5	0．228	0．178	0．168
BAMB701	59．1	65．2	69．5	0．263	0．155	0．559
BAMB674*	62．9	67．3	68．4	－	－	－

＊Ｎ＝１

【０１５３】

実施例２：熱安定性試験

ＢＡＭＢ３１ヒトフレームワーク適合化変異体について、これらの熱安定性を、ナノ示差走査蛍光測定法（nano differential scanning fluorimetry、ＮａｎｏＤＳＦ）を使用して評価して、融解開始温度（Ｔｏｎｓｅｔ）、第１の融解転移温度（Ｔｍ１）、及び初期凝集検出の温度（Ｔａｇｇ）を測定した。変異体の一部のデータを表２（列６～列８）及び表３（行１０～行１２）及び表３ａに示す。

【０１５４】

材料及び方法：試料の熱安定性は、自動化Ｐｒｏｍｅｔｈｅｕｓ器具を使用して判定される。測定は、試料を３８４ウェル試料プレートから２４ウェルの毛管に装填することによって行われる。各試料について２回測定が行われる。Ｐｒｏｍｅｔｈｅｕｓ ＮａｎｏＤＳＦユーザインターフェース（Ｍｅｌｔｉｎｇ Ｓｃａｎタブ）を使用して、実施のための実験パラメータを設定する。典型的なＩｇＧ試料の熱走査は、１．０℃／分の速度で２０℃～９５℃に及ぶ。試料の典型的な濃度は、０．３～１ｍｇ／ｍＬの範囲に及ぶ。３３０ｎｍ及び３５０ｎｍにおける分子固有の蛍光を使用して、温度ランプ中のアンフォールディングをモニタし、経時的な蛍光強度の変化として記録する。これは、熱走査の結果（Ｔｍ）と呼ばれる。並行して、バックリフレクション技術を使用して、機器は、熱ランプ中の凝集の開始（Ｔａｇｇ）を計算する。したがって、ＮａｎｏＤＳＦ法は、様々な条件下で長期間の試料安定性の指標としてモニタされることが多い、リード候補の立体構造及びコロイド安定性の同時測定を可能にする。

【０１５５】

実施例３：Ｅｐｉｖａｘ ｉｎ ｓｉｌｉｃｏの免疫遺伝学的リスク評価

ＭＨＣクラスＩＩ結合性を予測するためのＥｐｉＭａｔｒｉｘソフトウェア（ＥｐｉＶａｘ　Ｉｎｃ．）を使用して、抗Ａβ　３ｐＥ　ｍａｂのＶ領域のｉｎ　ｓｉｌｉｃｏ分析を行った。ソフトウェアは、連続するアミノ酸９量体を調べて、潜在的なＨＬＡクラスＩＩ結合配列を同定する。データベースは、ヒト集団の約９５％を占める最も一般的なＨＬＡタイプを含む。抗原提示細胞のＨＬＡ受容体がペプチドのアグレトープに結合する場合、そのペプチド（エピトープ）の他の面は、Ｔエフェクタ細胞又はＴ調節細胞に結合することができ、これにより、そのエピトープを有するタンパク質に対する免疫応答の刺激又は抑制をもたらすことができる。ソフトウェアは、予測されるＴ調節細胞の結合のために調節することができるアグレトープ結合スコアを生成する。スコアは、タンパク質のサイズ及びタンパク質の予測免疫原性を示す出力につながる結合事象の数に対して正規化される。

【０１５６】

実施例４：精製されたｍＡｂの分析特性

各精製されたｍＡｂのタンパク質濃度を、ＮａｎｏＤｒｏｐ１０００分光光度計又はＴｒｉｎｅａｎ　ＤｒｏｐＳｅｎｓｅ９６マルチチャネル分光光度計で２８０ｎｍでの吸光度を測定することによって求め、アミノ酸配列に基づいて減衰係数を使用して計算した。

【０１５７】

Ｗａｔｅｒｓ　Ａｌｌｉａｎｃｅ　ＨＰＬＣ上で１ｍＬ／分で２０分間、０．２Ｍ　Ｎａ　Ｐｈｏｓｐｈａｔｅ　ｐＨ６．８において、ＴＯＳＯＨ　ＴＳＫｇｅｌ　ＢｉｏＡｓｓｉｓｔ　Ｇ３ＳＷｘｌカラム上の試料を稼働させることによって精製された抗体のＳＥ　ＨＰＬＣを行った。カラム溶出液を、２８０ｎｍでの吸光度によってモニタした。結果を表２及び表３に示す。

【０１５８】

実施例５：結合動態及び親和性の測定

表面プラズモン共鳴（Surface Plasmon Resonance、ＳＰＲ）は、生体分子相互作用を調査するために使用される無標識の検出方法である。センサ表面上の質量の小さい変化をモニタして、この直接リアルタイム結合アッセイは、生体分子間の相互作用に関する定性的及び定量的データを提供する；すなわち、平衡結合定数（親和性、K_D）及び動態定数（k_a／k_d；複合体の会合速度k_a、及び複合体の解離速度k_d）を決定する。この方法は、タンパク質－タンパク質及びタンパク質－核酸の相互作用、並びにタンパク質と小分子との相互作用の研究において有用である。ここで、３ｐＥ－特異性抗体とヒトＡβ３ｐＥ－４０（配列番号４０）又はＡβ３ｐＥ－２８（配列番号４２）との間の相互作用、及びヒトＡβ１－４０（配列番号４１）又はＡβ１－２８（配列番号４３）とげっ歯類Ａβ３ｐＥ－２８ペプチド（配列番号４５及び４６）との間の相互作用を調査した。

【０１５９】

材料及び方法

ＳＰＲ：ＧＥ　Ｈｅａｌｔｈｃａｒｅ製のマウス抗体捕捉キットを、Ａβ－３ｐＥ－４０ペプチド（配列番号４０）に対するＢＡＭＢ３１＿２ａ（ｍＩｇＧ２ａ）の親和性試験に使用した。（米国特許出願公開第２０１８／０１４２０１１号に記載された）Ｊ＆ＪＰＲＤ／Ａβ／ｐＥ３／１　ｍＩｇＧ２ａ及び（米国特許第９９４４６９６号及び米国特許第８６７９４９８号に記載された）ｍＥ８ｃ　ｍＩｇＧ２ａを対照抗体として含んだ。製造業者のプロトコルに従って、ＣＭ５センサチップ上のアミンカップリングを介して抗マウス抗体の固定化を実施した。続いて、目的の抗体（１μｇ／ｍＬ）を抗マウス抗体によって３００ＲＵの濃度まで捕捉した後、続いて、ランニング緩衝液（２．７ｍＭ　ＫＣｌ、１３７ｍＭ　ＮａＣｌ及び０．０５％界面活性剤Ｐ２０（Ｔｗｅｅｎ（商標）２０））を含む２０ｍＭリン酸緩衝液）で希釈した様々な濃度（３．１２５ｎＭ、６．２５ｎＭ、１２．５ｎＭ、２５ｎＭ及び５０ｎＭ）のヒトＡβ　３ｐＥ－４０ペプチド（配列番号４０）を注入した。表面を、ｐＨ１．７の１０ｍＭグリシンＨＣｌで少なくとも１８０秒間、更に６０秒間再生した。ヒトＡβ（１－４０）ペプチド（配列番号４１）を陰性対照として使用した。

【０１６０】
光学バイオセンサＴ２００（Ｂｉａｃｏｒｅ（登録商標））を使用して、親和性測定を行った。Ｂｉａｃｏｒｅ　Ｔ２００　Ｅｖａｌｕａｔｉｏｎ　Ｓｏｆｔｗａｒｅ（バージョン２．０）を用いて、１：１結合フィッティングモデルに従って動態解析を行った。
【０１６１】
場合によっては、抗Ａβ　３ｐＥ　ｍＡｂの結合親和性及び特異性は、異なる器具（Ｂｉａｃｏｒｅ　Ｔ２００、Ｂｉａｃｏｒｅ　８K又はＭＡＳＳ－２（Ｂｉａｃｏｒｅ，Ｉｎｃ．））及び抗ヒト又は抗マウス免疫グロブリンバイオセンサー表面を使用して実施されるＳＰＲによって測定された。抗ヒト又は抗マウス免疫グロブリン抗体を、アミンカップリング化学の製造業者の取扱説明書を使用して、ＣＭ４センサチップ又はＣＭ５センサチップ（ＧＥ　Ｈｅａｌｔｈｃａｒｅ）の表面に共有結合させた。目的の抗体を、抗ヒト又はマウス免疫グロブリンセンサチップ上に３００～４００ＲＵの濃度まで捕捉した後、Ａβペプチド又はタンパク質（例：ヒトＡβ　３ｐＥ－４０（配列番号４０）、Ａβ　３ｐＥ－２８（配列番号４２）、スクランブルＡβ　３ｐＥ－２８（配列番号４４）、Ａβ　１－２８（配列番号４３）、マウスＡβ　３ｐＥ－２８（配列番号４６）、又はフィブロネクチン）の、０．００５％界面活性剤Ｐ２０（Ｔｗｅｅｎ（商標）２０）を含有するＨＥＰＥＳ緩衝生理食塩水において様々な濃度で注入する。１００μＬ／分で３０μＬの１０ｍＭ　Ｇｌｙ　ｐＨ１．５を２パルス注入して表面を再生した。報告データは、捕捉抗体を含む流動細胞と、捕捉抗体を含まない参照細胞との間のＳＰＲシグナルの差異である。基準－引算シグナル（reference-subtracted signal）からブランク注入のデータを引算することによって、シグナルに対する器具の追加の寄与を除去した。適用可能である場合、Ｂｉａｅｖａｌｕａｔｉｏｎソフトウェア（Ｂｉａｃｏｒｅ，Ｉｎｃ．）を使用して全ての濃度（グローバルフィット）における会合及び解離相を１：１結合モデルにフィッティングさせることにより、データを分析した。適用可能でない場合、データは、結合あり／結合なしについて定性的に評価された。
【０１６２】
ホルマリン固定、パラフィン包埋脳に対する免疫組織化学法：免疫組織化学的分析のために、切片の脱パラフィン化及び再水和後、ギ酸（蒸留水中７０％）中で１０分間、トランスジェニックマウスの脳スライドをインキュベートすることによって抗原賦活行い、内因性ペルオキシダーゼ活性を３％過酸化水素（ＤＡＫＯ；（Ｇｌｏｓｔｒｕｐ，Ｄｅｎｍａｒｋ）Ｓ２０２３）によりブロッキングした。バックグラウンド減少成分（ＤＡＫＯ、Ｓ３０２２）を有する抗体希釈剤中の異なる濃度（作用濃度：２、０．１－０．０５－０．０２５μｇ／ｍＬ）で、ＢＡＭＢ６７４、ＢＡＭＢ６７５、ｈＥ８Ｌ、Ｒ１７Ｌ、Ｒ１７、ＣＩ－Ｃ７、Ｂ１２Ｌ、抗体Ｉ又は抗体ＩＩ（後方の７つの抗体は、米国特許第９９４４６９６（Ｂ２）号及び米国特許第８６７９４９８（Ｂ２）号において前述されている）と共に切片を１時間インキュベートした。広範囲を洗浄した後、ＨＲＰ標識抗ヒト二次抗体（抗体希釈剤（ＤＡＫＯ、Ｓ０８０９）におけるＰＩ－３０００（Ｖｅｃｔｏｒ　ｌａｂｓ（Ｂｕｒｌｉｎｇａｍｅ，ＣＡ））－１／５００）を、スライドに１時間適用し、続いて３，３－ジアミノベンジジン（ＤＡＢ）（ＤＡＫＯ、Ｋ３４６８）で発色性標識を行った。スライドをヘマトキシリンで対比染色し、脱水し、Ｖｅｃｔａｍｏｕｎｔ（Ｈ－５０００、Ｖｅｃｔｏｒ　Ｌａｂｓ）で恒久的に固定した。
【０１６３】
結果：モノクローナル抗体ＢＡＭＢ３１＿２ａ（ｍＩｇＧ２ａ）の動態解析により、Ａβ３ｐＥ－４０ペプチド（配列番号４０）に対する親和性結合が確認された。最大５０ｎＭの濃度でヒトＡβ－１４０ペプチド（配列番号４１）を適用したときに、結合は検出されなかった。ヒトＡβ３ｐＥ－４０ペプチド（配列番号４０）に対するＢＡＭＢ３１＿２ａ（ｍＩｇＧ２ａ）の結合相互作用を示すセンサグラム（シングルサイクル動態）を図１に示す。比較基準である分子として、Ｊ＆ＪＰＲＤ／Ａβ／ｐＥ３／１　ｍＩｇＧ２ａ及びｍＥ８ｃ　ｍＩｇＧ２ａ（図２）を同じアッセイで評価し、ｍＥ８ｃ及びＪ＆ＪＰＲＤ／Ａβ／ｐＥ３／１と比較してＢＡＭＢ３１の親和性が高いことが実証された。平衡結合

定数（親和性、K_D）及び動態定数（k_a／k_d）を表４に示す。

【０１６４】

【表５】

表４：Ｊ＆ＪＰＲＤ／Ａβ／ｐＥ３／１、ＢＡＭＢ３１及びｍＥ８ｃ　ｍＩｇＧａの動態

試料		ka(1／Ms)	kd(1／s)	K_D(pM)
J&JPRD／Aβ／pE3／1（mIgG2a）	平均	1．12E＋05	9．37E－05	853
	SD	1．48E＋04	1．53E－05	201
BAMB31(mIgG2a)	平均	9．30E＋05	4．94E－05	53
	SD	6．01E＋03	3．97E－06	5
mE8c（mIgG2a）	平均	3．36E＋05	3．20E－05	96
	SD	1．05E＋04	7．27E－06	25

【０１６５】

ＢＡＭＢ３１＿２ａ（ｍＩｇＧ２ａ）親及びＢＡＭＢ２４６（ヒトＩｇＧ１キメラ）親と比較して、Ｈｃ　ＣＤＲ２　ＮＧ脱アミド化リスクが軽減されたＢＡＭＢ３１　ＨＦＡｍＡｂｓ（ＢＡＭＢ６７４及びＢＡＭＢ６７５）の動態解析は、Ａβ３ｐＥ－２８ペプチド（配列番号４２）に対する結合親和性を保持することを示した。平衡結合定数（親和性、K_D）及び動態定数（k_a／k_d）を表５に示す。

【０１６６】

前述のヒト化３ｐＥ－特異性抗体ｈＥ８Ｌ、Ｒ１７Ｌ、Ｒ１７、ＣＩ－Ｃ７、Ｂ１２Ｌ、抗体Ｉ、及び抗体ＩＩ（米国特許第９９４４６９６（Ｂ２）号及び米国特許第８６７９４９８（Ｂ２）号に前述されている）と比較して、表５に示すように、現行のＢＡＭＢ３１　ＨＦＡ分子の親和性はより高い。

【０１６７】

【表６】

表５：ＢＡＭＢ３１　ＨＦＡ分子及びｍＥ８ｃ　ＨＦＡ分子の３ｐＥ　Ａβ結合動態

試料	N	ka(1／Ms)	kd(1／s)	K_D(pM)
BAMB675	9	3．24E＋06	8．24E－05	25．7
BAMB674	9	3．27E＋06	8．32E－05	25．4
BAMB246(ヒトキメラ親)	9	3．53E＋06	4．42E－05	12．6
BAMB31＿2a(mIgG2a親)	1	2．89E＋06	7．97E－05	27．5
抗体I	5	9．86E＋05	1．84E－04	228．0
抗体II	5	1．43E＋06	1．02E－04	82．0
B12L	1	2．81E＋05	1．25E－04	445．0
C1－C7	2	1．46E＋05	2．63E－04	1810
hE8L	2	5．07E＋05	6．36E－05	127．0
R17L	2	3．21E＋05	3．31E－04	1030
R17	2	1．28E＋05	7．43E－04	5800
ヒトキメラmE8c	4	7．02E＋05	≦6．44e－5	≦78．0
mE8c mIgG2a親	4	7．25E＋05	≦6．46e－5	≦89．0

ヒトキメラ抗体は、ヒトＩｇＧ１定常領域上にマウス可変領域を有する。

【０１６８】

【表７】

表５ａ：結合親和性の比較

試料	ka（1／Ms）	kd（1／s）	K_D（M）
BAMB700	2．88E＋06	9．86E－06	3．42E－11
BAMB701	3．01E＋06	9．47E－05	3．14E－11
BAMB674	3．39E＋06	1．36E－04	4．01E－11
BAMB675	3．74E＋06	1．66E－04	4．43E－11
対照mAb	4．11E＋06	1．56E－04	3．79E－11

ＨＵ－３ｐＥ－β－アミロイドの濃度範囲０．６～４．５ｎＭ

【０１６９】

ＳＰＲによって測定される際のより高い親和性もまた、改善されたプラーク結合に変換される。トランスジェニックマウス脳の脳切片に対して免疫組織化学法による一次抗体の希釈系列を実施した。全ての抗体は、異なる範囲であるが、２μｇ／ｍＬで視認可能なプラーク標識が付与される。抗体ＣＩ－Ｃ７及びＲ１７Ｌは、０．１μｇ／ｍＬの濃度で、ＳＰＲにより測定したときの低い親和性に従って、視認可能なプラーク標識を生成しなかった。０．０５μｇ／ｍＬの濃度で、ＢＡＭＢ６７４及びＢＡＭＢ６７５は、プラーク標識を示す一方で、プラーク標識は、比較基準である分子に対してこの濃度で見えない（図３）。０．０２５μｇ／ｍＬの濃度で、視認可能なプラーク標識は、試験した全ての分子について（ほぼ完全に）見えない。

【０１７０】

結論として、免疫組織化学的データは、比較基準である分子に対してＢＡＭＢ６７４及びＢＡＭＢ６７５のより高い親和性を示すＳＰＲデータを確認している。

【０１７１】

ＢＡＭＢ２４６（ヒトＩｇＧ１キメラ）及び現行のＢＡＭＢ３１　ＨＦＡ　ｍＡｂ（ＢＡＭＢ６７４及びＢＡＭＢ６７５）は、非常に相同なマウスＡβ　３ｐＥ－２８ペプチド（配列番号４６）より３ログ超大きい選択性、並びにフィブロネクチン、Ａβ　１－２８ペプチド（配列番号４３）、及びスクランブルアミノ酸３～９を有するＡβ　３ｐＥ－２８ペプチド（スクランブル３ｐＥ－２８）（配列番号４４）より５ログ超大きい選択性を有した。関連するペプチド及びタンパク質に対する選択性の結果及び平衡結合定数（親和性、K_D）及び動態定数（k_a及びk_d）を表６に示す。

【０１７２】

【表８】

表６：関連標的へのＢＡＭＢ２４６（ヒトＩｇＧ１キメラ）及びＨＦＡ　ｍＡｂの選択的結合動態

試料	ペプチド／タンパク質	ka（1／Ms）	kd（1／s）	K_D（M）	選択性の倍率
BAMB246	マウスAβ　3pE－28	1．02E＋04	4．04E－04	3．96E－08	3143
	フィブロネクチン	1．2uMまで結合なし		＞1．20E－06	＞95000
	ヒトAβ　1－28	1．2uMまで結合なし		＞1．20E－06	＞95000
	スクランブル3pE－28	1．2uMまで結合なし		＞1．20E－06	＞95000
BAMB674	マウスAβ　3pE－28	7．40E＋03	3．38E－04	4．55E－08	1791
	フィブロネクチン	1．2uMまで結合なし		＞1．20E－06	＞47000
	ヒトAβ　1－28	1．2uMまで結合なし		＞1．20E－06	＞47000
	スクランブル3pE－28	1．2uMまで結合なし		＞1．20E－06	＞47000
BAMB675	マウスAβ　3pE－28	4．68E＋03	3．33E－04	7．75E－08	3014
	フィブロネクチン	1．2uMまで結合なし		＞1．20E－06	＞46000
	ヒトAβ　1－28	1．2uMまで結合なし		＞1．20E－06	＞46000
	スクランブル3pE－28	1．2uMまで結合なし		＞1．20E－06	＞46000

スクランブル３ｐＥ－２８は、スクランブルアミノ酸３～９を有するヒトＡβ　３ｐＥ

－２８ペプチドである。
表４のＫＤを表３のＫＤで除算することにより、選択性の倍率を求めた。
≧１．２０Ｅ－０６のＫD（Ｍ）では、試験した最大１．２μＭ濃度まで抗原の結合が検出されなかった。
【０１７３】
野生型ＩｇＧ１（ＢＡＭＢ６７４）及び＋ＹＴＥ　ＩｇＧ１アイソタイプ（ＢＡＭＢ６７５）に対するＢＡＭＢ３１　ＨＦＡ抗体のＦｃＲｎ結合親和性を表７に示す。＋ＹＴＥ　ｍＡｂ（ＢＡＭＢ６７５）は、カニクイザルの薬物動態試験において＋ＹＴＥ抗体のより長い循環半減期に変換された野生型ＩｇＧ１（ＢＡＭＢ６７４）と比較して、ヒト及びカニクイザルＦｃＲｎに対して親和性が約３倍高い（図１１）。
【０１７４】
【表９】
表７：野生型としてのＨＦＡ　ｍＡｂと＋ＹＴＥ　ＩｇＧ１を比較する
ＦｃＲｎ結合親和性

試料	FcRn	K_D（M）
IgG1対照	ヒト	４．４３Ｅ－０７
IgG1対照	カニクイザル	４．３０Ｅ－０７
BAMB674	ヒト	３．４９Ｅ－０７
BAMB674	カニクイザル	２．６８Ｅ－０７
BAMB675	ヒト	１．１１Ｅ－０７
BAMB675	カニクイザル	８．６４Ｅ－０８

ＫＤ（Ｍ）値を、５～６個の独立した複製から平均した。
【０１７５】
実施例６：交差反応性試験のためのサンドイッチＥＬＩＳＡ
選択されたＡβ３ｐＥモノクローナル抗体ＢＡＭＢ３１について、げっ歯類Ａβ３ｐＥ－４０（配列番号４５）及びヒトＡβ１－４０（配列番号４１）、Ａβ１－４２（配列番号４８）、Ａβ１１ｐＥ－４０（配列番号４９）及びＡβ１１ｐＥ－４２（配列番号５０）との交差反応性を、合成ペプチドを使用して評価した。ＢＡＭＢ３１＋ＪＲＦ／ｃＡβ４０／２８－ＨＲＰＯの組み合わせを使用して、Ａβ１－４０（配列番号４１）、Ａβ１１ｐＥ－４０（配列番号４９）及びげっ歯類Ａβ３ｐＥ－４０（配列番号４５）との交差反応性を調査し、ＢＡＭＢ３１＋ＪＲＦ／ｃＡβ４２／２６－ＨＲＰＯの組み合わせを使用して、Ａβ１－４２（配列番号４８）及びＡβ１１ｐＥ－４２（配列番号５０）との交差反応性を調査した。最大１０，０００ｐｇ／ｍＬの濃度を試験した。
【０１７６】
材料及び方法：標準物質を０．１ｍｇ／ｍＬでジメチルスルホキシド（ＤＭＳＯ）（Ｓｉｇｍａ）に溶解し、－８０℃で保存した。ＥＬＩＳＡでの使用のために、ペプチドをＰＢＳ中０．１％カゼインで１ｐｇ／ｍＬまで更に希釈した。９６ウェルプレート（Ｍａｘｉｓｏｒｂ　ＥＬＩＳＡプレート；ＮＵＮＣ）を、コーティング緩衝液中、１．５μｇ／ｍＬの濃度でＢＡＭＢ３１＿１からのモノクローナル抗体を用いて４℃で一晩コーティングした。翌日、プレートを洗浄し、ＰＢＳ中０．１％カゼインを用いて室温で１～４時間ブロッキングした。標準物質をＨＲＰＯ標識二次抗体（ＪＲＦ／ｃＡβ４０／２８－ＨＲＰＯ又はＪＲＦ／ｃＡβ４２／２６－ＨＲＰＯ）と一緒に４℃で一晩インキュベートした。一晩インキュベートした後、プレートを洗浄し、製造業者の推奨に従って、ＴＭＢ過酸化物ＥＩＡ基質キット（Ｂｉｏｒａｄ）を用いてアッセイを行った。
【０１７７】
結果：ＢＡＭＢ３１は、１０ｎｇ／ｍＬまでの濃度において、Ａβ３ｐＥ－４０（配列番号４０）及びＡβ３ｐＥ－４２（配列番号５１）への選択的結合を有し、ヒトＡβ１－４０（配列番号４１）、ヒトＡβ１－４２（配列番号４８）及びげっ歯類Ａβ３ｐＥ－４０（配列番号４５）及びヒトＡβｐＥ１１－４０（配列番号４９）及びＡβｐＥ１１－４

２（配列番号５０）に対する検出可能な交差反応性を有さないことが示された（図４）。
【０１７８】
実施例７：トランスジェニックマウス及びヒトＡＤ脳組織におけるプラークへの抗体反応性を試験するための免疫組織化学法
プラークへの抗体の反応性を、ホルマリン固定、パラフィン包埋（ＦＦＰＥ）脳組織、並びに凍結保存脳組織の両方において調査した。
【０１７９】
材料及び方法
ホルマリン固定、パラフィン包埋脳：免疫組織化学的分析のために、切片の脱パラフィン化及び再水和後、ギ酸（蒸留水中７０％）中で１０分間、トランスジェニックマウス脳スライドをインキュベートすることによって抗原賦活を行い、内因性ペルオキシダーゼ活性を３％過酸化水素（ＤＡＫＯ（Ｇｌｏｓｔｒｕｐ、Ｄｅｎｍａｒｋ）Ｓ２０２３）でブロッキングした。切片を、ＢＡＭＢ２４６（ｈｕＩｇＧ１キメラ）、ＢＡＭＢ６７４又はＢＡＭＢ６７５（作業濃度：バックグラウンド減少成分（ＤＡＫＯ、Ｓ３０２２）を有する抗体希釈剤において４μｇ／ｍＬ）と共に１時間インキュベートした。広範囲を洗浄した後、ＨＲＰ標識された抗ヒト二次抗体（抗体希釈剤（ＤＡＫＯ、Ｓ０８０９）中のＰＩ－３０００、Ｖｅｃｔｏｒ　ｌａｂｓ－１／５００）をスライドに１時間適用し、続いて３，３－ジアミノベンジジン（ＤＡＢ）（ＤＡＫＯ、Ｋ３４６８）で発色性標識を行った。スライドをヘマトキシリンで対比染色し、脱水し、Ｖｅｃｔａｍｏｕｎｔ（Ｈ－５０００、Ｖｅｃｔｏｒ　Ｌａｂｓ）で恒久的に固定した。
【０１８０】
凍結保存脳：ヒト脳試料を急速凍結し、クリオスタットでスライスし（２０μｍ厚）、使用前に－８０℃で保存した。切片を室温で乾燥させ、続いてホルマリン固定、内因性ペルオキシダーゼの３％過酸化水素（ＤＡＫＯ（Ｇｌｏｓｔｒｕｐ、Ｄｅｎｍａｒｋ）Ｓ２０２３）でのブロッキング、及びＰＢＳ１ｘ＋０．３％　Ｔｒｉｔｏｎ　Ｘ－１００及び１０％通常のヤギ血清（ＤＡＫＯ、Ｘ０９０７）において１時間ブロッキングした。一次抗体ｐＥ３／１６（バックグラウンド減少成分（ＤＡＫＯ、Ｓ３０２２）を有する抗体希釈剤において２μｇ／ｍＬ）を切片に１時間適用した。広範囲を洗浄した後、ＨＲＰがコンジュゲートした抗マウス二次抗体（Ｅｎｖｉｓｉｏｎ、ＤＡＫＯ、Ｋ４０００）、続いて色原体ＤＡＢ標識（ＤＡＫＯ、Ｋ３４６８）と共にスライドをインキュベートした。スライドをヘマトキシリンで対比染色し、無水化して有機固定培地（Ｖｅｃｔａｍｏｕｎｔ，Ｖｅｃｔｏｒ　ｌａｂｓ）で固定した。撮像は、Ｈａｍａｍａｔｓｕ　Ｎａｎｏｚｏｏｍｅｒ（Ｈａｍａｍａｔｓｕ　Ｐｈｏｔｏｎｉｃｓ　（Ｓｈｉｚｕｏｋａ、Ｊａｐａｎ））で行われた。
【０１８１】
結果：ＢＡＭＢ２６４（ヒトＩｇＧ１キメラ）並びにＢＡＭＢ６７４及びＢＡＭＢ６７５の反応性を、トランスジェニックマウスのＦＦＰＥ組織上で実証した（図５Ａ～図５Ｆ）。更に、ＢＡＭＢ３１＿２ａ（ｍＩｇＧ２ａ）は、凍結保存されたＡＤ脳組織内の実質的なプラーク標識を示した（図６）。抗体４Ｇ８によって検出されたプラークの実質的な画分もまた、ヒト脳の低温切開片においてＢＡＭＢ３１によって標識される（図５Ａ～図５Ｆ）。＋＋
【０１８２】
実施例８：トランスジェニックマウスにおける投与後の血清抗体価
ＢＡＭＢ３１及び比較基準である分子ｍＥ８ｃによる処理後の血清抗体価を調査した。
【０１８３】
材料及び方法：高濃度のヒトＡβ４２及びＡβ４０ペプチドを発現する老化したトランスジェニックマウス（２２～２３ヶ月齢）は、２０ｍｇ／ｋｇのｍＥ８ｃ　ｍＩｇＧ２ａ、ＢＡＭＢ３１＿２ａ（ｍＩｇＧ２ａ）又はアイソタイプ対照抗体ｍＩｇＧ２ａ（治療群当たりｎ＝５）の単回腹腔内（ｉ．ｐ．）注射を受けた。抗体投与後、中間時点（注射後２４時間及び４８時間）に、ＭＩＣＲＯＶＥＴＴＥ（登録商標）回収チューブ（それぞれ

１００Ｚ及び３００Ｚ、Ｓａｒｓｔｅｄｔ（Ｎｕｍｂｒｅｃｈｔ、Ｇｅｒｍａｎｙ））において、（注射後４日目の）　殺時に眼窩の穿刺によって大伏在静脈を介して全血を収集した。収集した全血を室温で１～２時間インキュベートし、続いて１０，０００ｒｐｍで４℃で１０分間遠心分離して、血清を血液血塊から分離した。血清抗体価は、アロタイプ特異的酵素結合免疫吸着アッセイ（enzyme-linked immunosorbent assay、ＥＬＩＳＡ）を使用して決定した。このため、Ｎｕｎｃ　ＭａｘｉＳｏｒｐ（商標）平底プレート（Ｔｈｅｒｍｏ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ（Ｗａｌｔｈａｍ，ＭＡ））を、１．５μｇ／ｍＬのマウスモノクローナル抗ＩｇＧ２ａ（ａ）（ＢＤ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ（ＳａｎＪｏｓｅ、ＣＡ））で室温で一晩コーティングした。ｍＥ８ｃ　ｍＩｇＧ２ａ、ＢＡＭＢ３１＿２ａ（ｍＩｇＧ２ａ）及びアイソタイプ対照ｍＩｇＧ２ａの抗体標準物を、ブロック緩衝液（ＰＢＳ緩衝液＋０．０５％Ｔｗｅｅｎ－２０中の１％ＢＳＡ）中で１μｇ／ｍＬで個別に調製し、ブロック緩衝液中で０．１ｎｇ／ｍＬに更に希釈した。洗浄後（ＰＢＳ緩衝液＋０．０５％Ｔｗｅｅｎ－２０）、試料をブロック緩衝液で室温で１時間ブロッキングした。次に、標準物及び予め希釈した血清試料を、コーティングされたＭＡＸＩＳＯＲＰ（商標）プレート中で室温で１時間インキュベートした。試料のインキュベーション後、プレートを洗浄し、Ｐｅｒｏｘｉｄａｓｅ－ＡｆｆｉｎｉＰｕｒｅヤギ抗マウスＩｇＧ（Ｆｃｙ　Ｓｕｂｃｌａｓｓ　２ａ特異性）抗体と共に室温で１時間インキュベートした。プレートを洗浄し、ＴＭＢ過酸化物ＥＩＡ基質キット（１工程、Ｐｉｅｒｃｅ）をウェルに添加することによって発色させた。２Ｎ　H_2SO_4をウェルに添加することによって２分後に発色を停止し、ＥｎＶｉｓｉｏｎマルチモードプレートリーダー（ＰｅｒｋｉｎＥｌｍｅｒ）を使用して、４５０ｎｍでプレートを読み取った。

【０１８４】

結果：血清抗体価は、２０ｍｇ／ｋｇの抗体の腹腔内注射の２４時間後、４８時間後及び４日後に測定した。血清中の平均抗体濃度は、調査した全ての抗体について２４時間後に同等であった。ＢＡＭＢ３１＿２ａ及びアイソタイプ対照抗体については、抗体濃度の減少は経時的に徐々に発生し（４日目に約３０％まで減少する）一方、４日目に約９７％減少したｍＥ８ｃについては、経時的に明らかにより大きい減少を観察することができた（図７）。

【０１８５】

結論として、プラーク沈着マウスモデルにおいてＢＡＭＢ３１＿２ａ及びｍＥ８ｃを腹腔内注射した後の薬物動態プロファイルの差が示され、ｍＥ８ｃと比較してＢＡＭＢ３１＿２ａ抗体による治療後のより遅いクリアランスが示された。

【０１８６】

実施例９：トランスジェニックマウスモデルにおける長期的有効性の研究

トランスジェニックマウスモデルにおいて、ＢＡＭＢ３１＿２ａ　ｍＩｇＧ２ａによる長期的治療後のアミロイド負荷の低減の有効性、並びに微小出血への効果を調査した。

【０１８７】

材料及び方法：ＰＤＡＰＰ（Ｖ７１７Ｆ）トランスジェニックマウス（研究開始時平均月齢１８．３ヶ月）を、３０ｍｇ／ｋｇのＢＡＭＢ３１＿２ａ抗体（ｍＩｇＧ２ａ）の１週間に１回の腹腔内投与で１２週間処理した。ｍＩｇＧ２ａアイソタイプ対照抗体注射を受けた対照群が実験に含まれた。最終腹腔内注射後７日目に動物を安楽死させた（研究終了時平均月齢２１．１ヶ月）。マウスは、収集前にＰＢＳで灌流を受けた。左半球（分画１：海馬、分画２：海馬／小脳／脳幹を含まない残りの脳）を、更なる生化学分析のために凍結保存し、一方、右半球をホルマリン系固定剤において一晩固定し、続いてパラフィンで包埋し、ミクロトームでスライスした（５μｍ）。

【０１８８】

長期的治療後のアミロイド負荷に対する効果を評価するために、生化学的分析及び免疫組織化学的分析の両方を行った。生化学的分析のために、Ｔａｌｌｐｒｅｐ　Ｌｙｓｉｎｇ　Ｍａｔｒｉｘ　Ｄチューブ（ＭＰ　Ｂｉｏ）を利用して、氷冷５Ｍグアニジン－ＨＣｌ及び５０ｍＭ　Ｔｒｉｓ／ＨＣｌ抽出緩衝液（１００ｍｇ組織／ｍＬ抽出緩衝液）中で脳を均

質化した。均質化後、室温で３時間エンドオーバーエンド回転ホイール内に試料を置いた。ＭＳＤサンドイッチイムノアッセイで分析する前に、得られたホモジネートを－８０℃で保存した。

【０１８９】

合成Ａβペプチド標準物質を０．１ｍｇ／ｍＬでジメチルスルホキシド（ＤＭＳＯ）（Ｓｉｇｍａ）に溶解し、－８０℃で保存した。ＭＳＤイムノアッセイで使用するために、ペプチドを、０．５Ｍ ＧｕＨＣｌ＋５ｍＭ Ｔｒｉｓ－ＨＣｌ－ｐＨ８．０（ＰＢＳ中０．１％カゼイン中の抽出緩衝液の１０倍希釈）で更に希釈した。ＧｕＨＣｌ抽出物を解凍し、ＰＢＳ中氷冷０．１％カゼイン中で１：１０に希釈し、４℃で２０分間２０，０００ｇで遠心分離した。上清を、サンドイッチＭＳＤアッセイで使用するために回収し、０．５Ｍ ＧｕＨＣｌ＋５ｍＭ Ｔｒｉｓ－ＨＣｌ－ｐＨ８．０（ＰＢＳ中０．１％カゼイン中の抽出緩衝液の１０倍希釈）で更に試料を希釈した。

【０１９０】

９６ウェルセクタープレート標準品（Ｍｅｓｏ Ｓｃａｌｅ Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ（Ｒｏｃｋｖｉｌｌｅ、ＭＤ））を、ＰＢＳ中、１．５μｇ／ｍＬの濃度でモノクローナル抗体を用いて４℃で一晩コーティングした。翌日、プレートを洗浄し、ＰＢＳ中０．１％カゼインを用いて室温で２時間ブロッキングした。標準物質及び試料をビオチン標識二次抗体と一緒に４℃で一晩インキュベートした。一晩インキュベートした後、プレートを洗浄し、二次検出試薬（Ｓｔｒｅｐｔａｖｉｄｉｎ－ＳＵＬＦＯ－ＴＡＧ（商標）標識化）と共に室温で２時間インキュベートした。プレートを洗浄し、２ｘ Ｒｅａｄ Ｂｕｆｆｅｒ Ｔを添加し、その後、製造元の推奨に従ってプレートを読み取った。１／Y^2重み付け関数を有する４パラメータロジスティックモデルを用いて標準曲線を用いてＡβ濃度を判定した。

【０１９１】

ＪＲＦ／ＡβＮ／２５＋４Ｇ８ビオチン抗体の組み合わせを使用して、脳ホモジネート中のＡβ１－ｘ濃度を調査した。

【０１９２】

免疫組織化学的分析のために、切片の脱パラフィン化及び再水和後、ギ酸（蒸留水中７０％）中で１０分間、スライドをインキュベートすることによって抗原賦活を行い、内因性ペルオキシダーゼ活性を３％過酸化水素（ＤＡＫＯ、Ｇｌｏｓｔｒｕｐ、Ｄｅｎｍａｒｋ、Ｓ２０２３）でブロッキングした。バックグラウンド減少成分（ＤＡＫＯ、Ｓ３０２２）を有する抗体希釈剤において１／２０００に希釈したビオチン化４Ｇ８抗体（Ｂｉｏｌｅｇｅｎｄ（Ｓａｎ Ｄｉｅｇｏ、ＣＡ））と共に切片を一晩インキュベートした。広範囲を洗浄した後、ストレプトアビジン－ＨＲＰ（ＰＫ６１００ Ｅｌｉｔｅ、Ｖｅｃｔｏｒ ｌａｂｓ）をスライドに３０分間適用し、続いて３，３－ジアミノベンジジン（ＤＡＢ）（ＤＡＫＯ、Ｋ３４６８）で発色性標識を行った。スライドをヘマトキシリンで対比染色し、脱水し、Ｖｅｃｔａｍｏｕｎｔ（Ｈ－５０００、Ｖｅｃｔｏｒ Ｌａｂｓ）で恒久的に固定した。ＮａｎｏＺｏｏｍｅｒスライドスキャナ（Ｈａｍａｍａｔｓｕ Ｐｈｏｔｏｎｉｃｓ）を用いて画像（２０ｘ）を生成し、Ｍａｔｌａｂ／Ｐｈａｅｄｒａで分析した。対象領域（region-of-interest、ＲＯＩ）を、Ｆｒａｎｋｌｉｎ ａｎｄ Ｐａｘｉｎｏｓ ａｔｌａｓ（Ｆｒａｎｋｌｉｎ ＫＢ，Ｐａｘｉｎｏｓ Ｇ．Ｍｏｕｓｅ ｂｒａｉｎ ｉｎ ｓｔｅｒｅｏｔａｘｉｃ ｃｏｏｒｄｉｎａｔｅｓ．Ｗａｌｔｈａｍ：Ａｃａｄｅｍｉｃ Ｐｒｅｓｓ；１９９７）に従って手動で線引きし、各ＲＯＩについて、総面積当たりのＤＡＢ標識された領域の割合を計算した。

【０１９３】

微小出血に対する効果を評価するために、Ｐｅｒｌ染色を実施した。簡潔に述べると、パラフィン包埋組織切片を、以下に記載のプロトコルに従って酸フェロシアン化物溶液で処理した。微量出血中に存在する第二鉄イオン（Ｆｅ３＋）は、フェロシアン化物と組み合わさって、プルシアンブルーと呼ばれる青色顔料の形成をもたらす。脱パラフィン化及び再水和後、２％フェロシアン化カリウム（Ｓｉｇｍａ－Ａｌｄｒｉｃｈ）と２％の氷状

塩酸（Ｓｉｇｍａ－Ａｌｄｒｉｃｈ）との１／１混合物中で、切片を３０分間インキュベートした。蒸留水で３回スライドをすすぎ洗いした後、ｎｕｃｌｅａｒ　ｆａｓｔ　ｒｅｄ（Ｓｉｇｍａ－Ａｌｄｒｉｃｈ）で対比染色を行った後、蒸留水、脱水、及び固定剤（Ｖｅｃｔａｍｏｕｎｔ、Ｖｅｃｔｏｒ　Ｌａｂｓ）ですすぎ洗いした。撮像は、ＮａｎｏＺｏｏｍｅｒスライドスキャナ（Ｈａｍａｍａｔｓｕ　Ｐｈｏｔｏｎｉｃｓ）で行った。髄膜付近のＰｅｒｌの陽性細胞数を手動で計数した。

【０１９４】

結果：全体的に、ベースライン、アイソタイプ対照、及びＢＡＭＢ３１治療群で少数の微小出血が観察された（図８）。生化学的分析は、海馬におけるＡβ１－ｘ濃度に関して、アイソタイプ対照抗体と比較してＢＡＭＢ３１＿２ａの３４％（ｐ＜０．０００１）の減少を示した（図９）。加えて、抗体４Ｇ８を用いた免疫組織化学法は、海馬及び皮質のアイソタイプ対照抗体と比較して、それぞれ２３％（ｐ＜０．０００１）及び３７％（ｐ＜０．００１）の減少を示した。

【０１９５】

結論として、プラーク沈着マウスモデルにおけるＢＡＭＢ３１による長期腹腔内注射後の微小出血の発生の増加を引き起こすことなく、アミロイド負荷の低減に対する有効性が実証され、ＢＡＭＢ３１抗体による治療後の有効性対毒性の好ましい比を示した。

【０１９６】

実施例１０：ＢＡＭＢ３１　ＨＦＡ　ｍＡｂの薬物動態

＋ＹＴＥ　ＩｇＧ１（ＢＡＭＢ６７５）アイソタイプ及び野性型ＩｇＧ１（ＢＡＭＢ６７４）としてのＢＡＭＢ３１　ＨＦＡ　ｍＡｂの薬物動態を、末梢循環及び脳における特性の直接比較のためにカニクイザルで評価した。

【０１９７】

材料及び方法：群当たり３匹の動物を、各ｍＡｂの２５ｍｇ／ｋｇの静脈内（ｉ．ｖ．）ボーラス注射により投与し、５週間にわたって血清試料を収集した。６週目に各ｍＡｂの２５ｍｇ／ｋｇの静脈内ボーラス注射を３匹の追加のサルに投与し、投与後７日目及び４２日目に、各群から脳組織を収集した。合計で、各分子について７日目及び４２日目に３匹のカニクイザルから脳試料を収集した。

【０１９８】

生体内カニクイザル血清及び脳組織試料からのＢＡＭＢ６７４及びＢＡＭＢ６７５の薬物曝露分析は、Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ（ＭＳＤ）Ｓｅｃｔｏｒ　Ｉｍａｇｅｒ　Ｓ６００上のエンドポイント決定を伴う個別の目的にかなった電気化学発光イムノアッセイ（ＥＣＬＩＡ）法を使用して実施した。１つのアッセイ形式を化合物及びマトリックスのそれぞれに適用し、曝露を測定するための４つの独立した方法を得た。この形式を以下のように説明する。ｍＡｂ化合物を捕捉し、抗ヒトＦｃ特異的（ＣＨ２ドメイン）マウスｍＡｂで検出した。脳組織調製のために、急速凍結組織を凍結粉砕し、緩衝液中で希釈することによってホモジネートを作製した。組織のタンパク質濃度を検証し、ＢＣＡアッセイを用いて判定し、本方法で使用される最終的なタンパク質濃度を得た。１／Ｙ２標準曲線重み付けを有する５パラメータロジスティック（自動推定）フィッティングを使用してＷａｔｓｏｎ　ＬＩＭＳソフトウェアで生データ回帰を実施した。

【０１９９】

中央コンパートメントへの静脈内（ｉ．ｖ．）投与（Ａｄｍｉｎ）による２コンパートメント（中央（V_C）及び組織（V_T）コンパートメント）の薬物動態（ＰＫ）モデル、コンパートメント間クリアランス（Ｑ）、及び線形クリアランス（ＣＬ）を使用して、カニクイザルにおいてＢＡＭＢ６７４及びＢＡＭＢ６７５のＰＫを特性評価する。図１０はモデルの概略を示す。

【０２００】

結果：各抗体の終相末半減期を計算し、これをカニクイザルのデータ及び２コンパートメントモデルのフィッティングと共に図１１に示す。＋ＹＴＥ　ＩｇＧ１アイソタイプ（ＢＡＭＢ６７５）は、野生型ＩｇＧ１アイソタイプ（ＢＡＭＢ６７４）と比較して約１．

６倍半減期が増加した。これは、表５に示される野生型ＩｇＧ１　ｍＡｂ（ＢＡＭＢ６７４）より約３倍増加した＋ＹＴＥアイソタイプ（ＢＡＭＢ６７５）のＦｃＲｎ親和性と相関している。

【０２０１】

領域にわたる脳溶解物レベル及びｍＡｂ間の脳溶解物レベルは、７日目において類似しているが、４２日目には、ＹＴＥ　ｍＡｂのみが脳領域及び動物にわたって一貫して検出されている。結果を図１２に示す。これは、後の時点での＋ＹＴＥ　ｍＡｂの曝露の増加と一貫している。

【０２０２】

本発明及び本発明の様々な実施形態を説明する際に、明瞭化のために特定の用語が用いられる。しかしながら、本発明は、そのように選択された特定の用語に限定されるように意図されていない。関連分野の当業者であれば、他の同等の構成要素を使用することができ、また、本発明の広い概念から逸脱することなく他の方法を開発することができることを認識するであろう。本明細書の至る所で引用される全ての参照文献は、それぞれが個々に組み込まれているかのように参照により組み込まれる。

本願明細書に記載の発明は、以下の態様を包含し得る。

［１］

ａ．　それぞれ、配列番号１、２、３、４、５、及び６、

ｂ．　それぞれ、配列番号１、７、３、４、５、及び６、

ｃ．　それぞれ、配列番号１、７、３、８、５、及び６、

ｄ．　それぞれ、配列番号１、２、３、８、５、及び６、

ｅ．　それぞれ、配列番号５６、５７、３、８、５、及び６、

ｆ．　それぞれ、配列番号５６、５７、３、４、５、及び６、

ｇ．　それぞれ、配列番号５６、５８、３、４、５、及び６、

ｈ．　それぞれ、配列番号５６、７、３、８、５、及び６、

ｉ．　それぞれ、配列番号１、５７、３、８、５、及び６、

ｊ．　それぞれ、配列番号５６、７、３、４、５、及び６、

ｋ．　それぞれ、配列番号１、５７、３、４、５、及び６、

ｌ．　それぞれ、配列番号１、５８、３、４、５、及び６、又は

ｍ．　それぞれ、配列番号５６、２、３、４、５、及び６のポリペプチド配列を有する、重鎖相補性決定領域１（ＨＣＤＲ１）、ＨＣＤＲ２、ＨＣＤＲ３、軽鎖相補性決定領域１（ＬＣＤＲ１）、ＬＣＤＲ２、及びＬＣＤＲ３を含む単離モノクローナル抗体又はその抗原結合断片であって、前記抗体又はその抗原結合断片は、３ｐＥ　Ａｂ、好ましくはヒト３ｐＥ　Ａｂに特異的に結合する、単離モノクローナル抗体又はその抗原結合断片。

［２］

配列番号９、１１、１３、１５、１６、１７、１９、２０、若しくは２１と少なくとも９５％同一のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域、又は配列番号１０、１２、１４、１８、２２、５３、若しくは５５と少なくとも９５％同一のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域を含む、上記［１］に記載の単離モノクローナル抗体又はその抗原結合断片。

［３］

ａ．　配列番号２１のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域及び配列番号２２のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域、

ｂ．　配列番号９のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域及び配列番号１０のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域、

ｃ．　配列番号１１のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域及び配列番号１２のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域、

ｄ．　配列番号１３のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域及び配列番号１４のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域、

ｅ．　配列番号１５のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域及び配列番号１４のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域、

ｆ．　配列番号１６のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域及び配列番号１４のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域、
ｇ．　配列番号２０のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域及び配列番号１４のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域、
ｈ．　配列番号１７のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域及び配列番号１８のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域、
ｉ．　配列番号１９のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域及び配列番号１８のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域、
ｊ．　配列番号２１のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域及び配列番号５３のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域、又は
ｋ．　配列番号２１のポリペプチド配列を有する重鎖可変領域及び配列番号５５のポリペプチド配列を有する軽鎖可変領域を含む、上記［１］に記載の単離モノクローナル抗体又はその抗原結合断片。
［４］
前記抗体又はその抗原結合断片はキメラである、上記［１］～［３］のいずれか一項に記載の単離モノクローナル抗体又はその抗原結合断片。
［５］
前記抗体又はその抗原結合断片はヒトである又はヒト化されている、上記［１］～［４］のいずれか一項に記載の単離モノクローナル抗体又はその抗原結合断片。
［６］
ａ．　配列番号３７を含む重鎖アミノ酸配列及び配列番号３８を含む軽鎖アミノ酸配列、
ｂ．　配列番号３９を含む重鎖アミノ酸配列及び配列番号３８を含む軽鎖アミノ酸配列、
ｃ．　配列番号３７を含む重鎖アミノ酸配列及び配列番号５２を含む軽鎖アミノ酸配列、又は
ｄ．　配列番号３９を含む重鎖アミノ酸配列及び配列番号５４を含む軽鎖アミノ酸配列を含む単離モノクローナル抗体。
［７］
上記［１］～［６］のいずれか一項に記載のモノクローナル抗体又はその抗原結合断片をコードしている単離核酸。
［８］
上記［７］に記載の単離核酸を含むベクター。
［９］
上記［８］に記載のベクターを含む宿主細胞。
［１０］
上記［１］～［６］のいずれか一項に記載のモノクローナル抗体又はその抗原結合断片と、医薬的に許容される担体と、を含む、医薬組成物。
［１１］
それを必要とする対象においてβ－アミロイドタンパク質を含有するプラークの形成に関連する状態を治療する方法であって、前記方法は、上記［１］～［６］のいずれか一項に記載のモノクローナル抗体若しくはその抗原結合断片、又は上記［１０］に記載の医薬組成物を、前記必要とする対象に投与することを含む、方法。
［１２］
前記状態はアルツハイマー病である、上記［１１］に記載の方法。
［１３］
前記状態は、トリソミー２１（ダウン症候群）に関連する認知症、びまん性レビー小体病、封入体筋炎、脳アミロイド血管症、及びオランダ型アミロイドーシスを伴う遺伝性脳出血（ＨＣＨＷＡ－Ｄ）からなる群から選択される、上記［１１］に記載の方法。
［１４］
それを必要とする対象においてアルツハイマー病に関連するプラークを減少させる方法であって、前記方法は、上記［１］～［６］のいずれか一項に記載のモノクローナル抗体

若しくはその抗原結合断片、又は上記［１０］に記載の医薬組成物を、前記必要とする対象に投与することを含む、方法。

［１５］

それを必要とする対象において３ｐＥ　Ａβのシーディング活性を防止する方法であって、前記方法は、上記［１］～［６］のいずれか一項に記載のモノクローナル抗体若しくはその抗原結合断片、又は上記［１０］に記載の医薬組成物を、前記必要とする対象に投与することを含む、方法。

［１６］

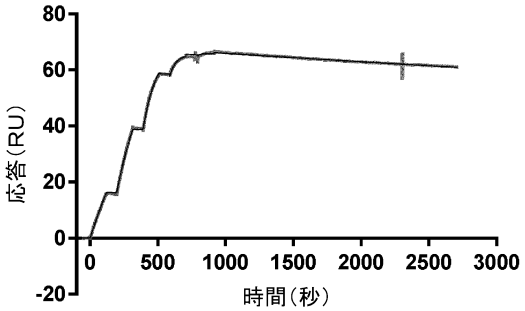
上記［１］～［６］のいずれか一項に記載のモノクローナル抗体又はその抗原結合断片を生成する方法であって、前記モノクローナル抗体又はその抗原結合断片を生成する条件下で、前記モノクローナル抗体又はその抗原結合断片をコードしている核酸を含む細胞を培養することと、前記抗体又はその抗原結合断片を回収することと、を含む、方法。

［１７］

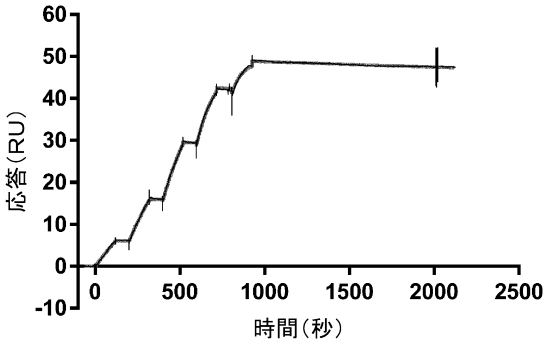
上記［１］～［６］のいずれか一項に記載のモノクローナル抗体又はその抗原結合断片を含む医薬組成物を製造する方法であって、前記方法は、前記モノクローナル抗体又はその抗原結合断片を医薬的に許容される担体と組み合わせて、前記医薬組成物を得ることを含む、方法。

【図面】

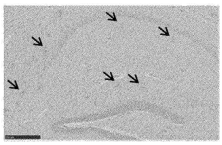
【図１】



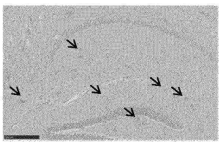
【図２】



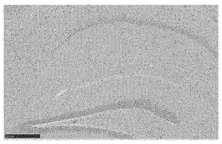
【図３Ａ】



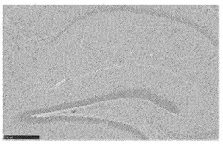
【図３Ｂ】



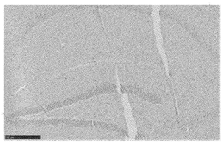
【図３Ｃ】



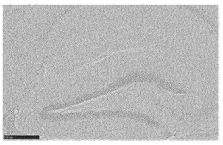
【図３Ｄ】



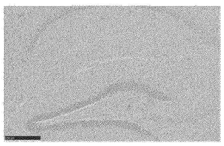
【図３Ｅ】



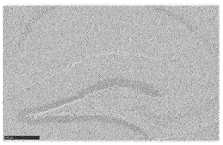
【図３Ｆ】



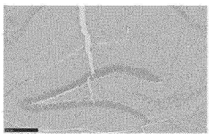
【図３Ｇ】



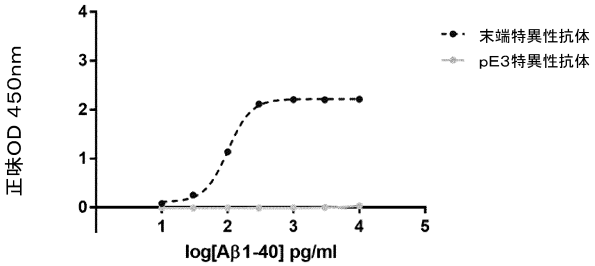
【図３Ｈ】



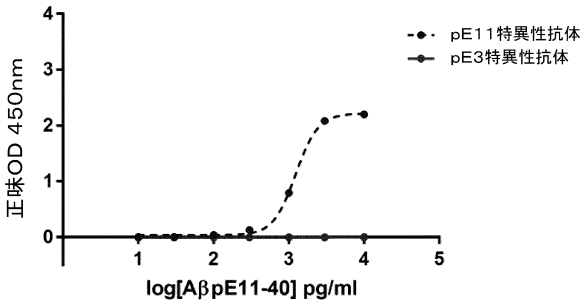
【図３Ｉ】



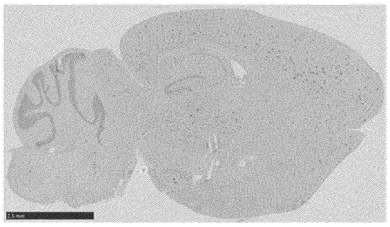
【図４Ａ】



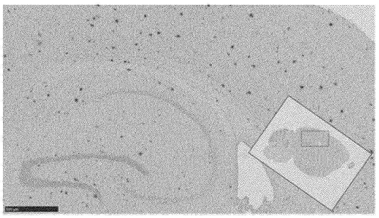
【図４Ｂ】



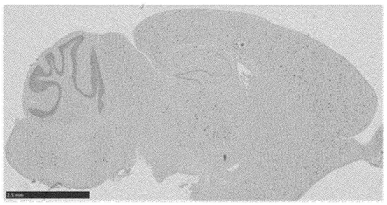
【図５Ａ】



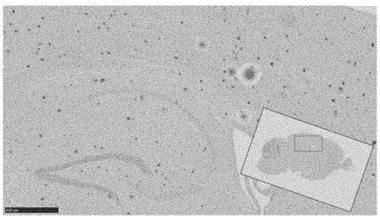
【図５Ｂ】



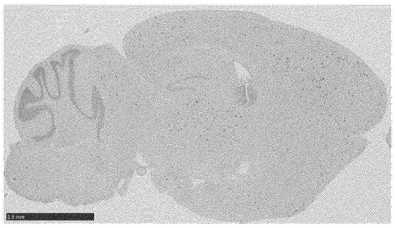
【図５Ｃ】



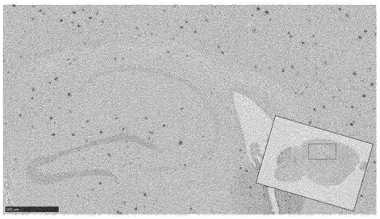
【図５Ｄ】



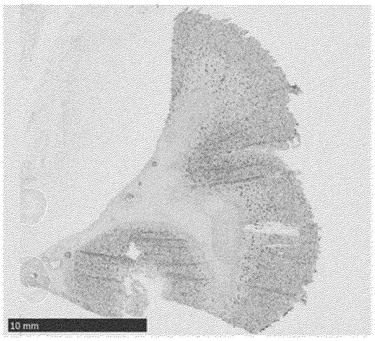
【図５Ｅ】



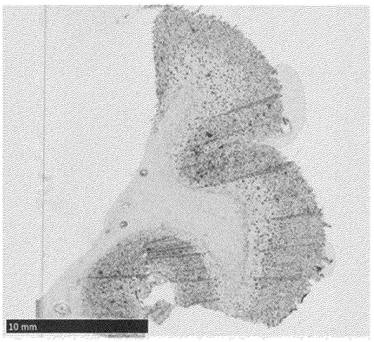
【図５Ｆ】



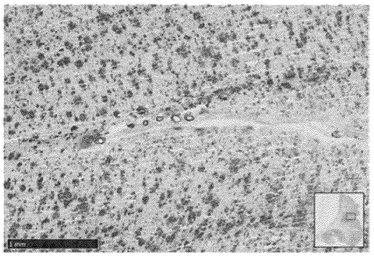
【図６Ａ】



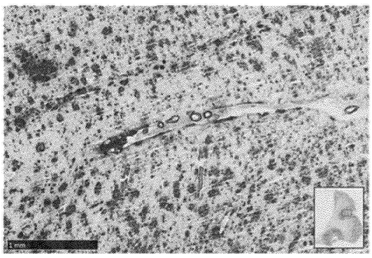
【図６Ｂ】



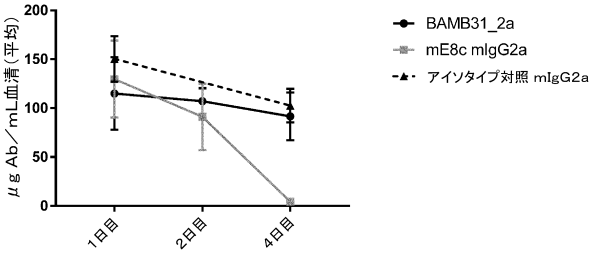
【図６Ｃ】



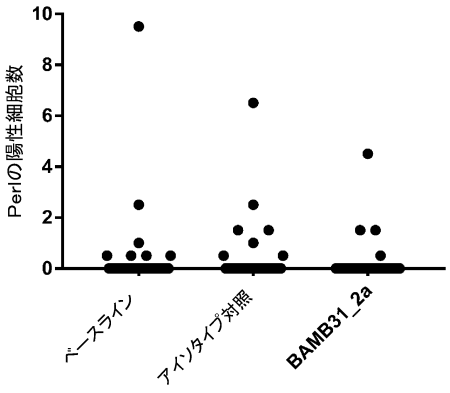
【図６Ｄ】



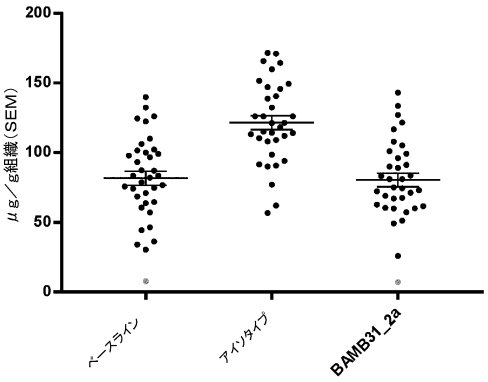
【図７】



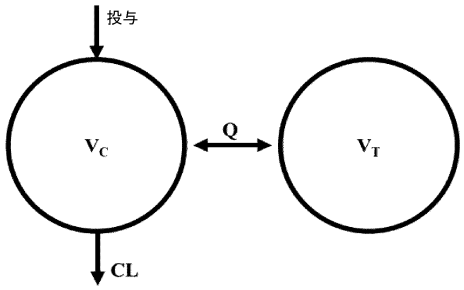
【図８】


Perlの陽性細胞数
10
8
6
4
2
0
ベースライン
アイソタイプ対照
BAMB31_2a

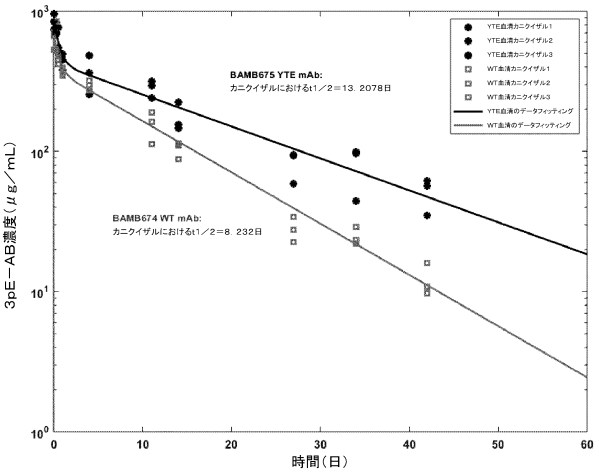
【図９】


μg／g組織（SEM）
200
150
100
50
0
ベースライン
アイソタイプ
BAMB31_2a

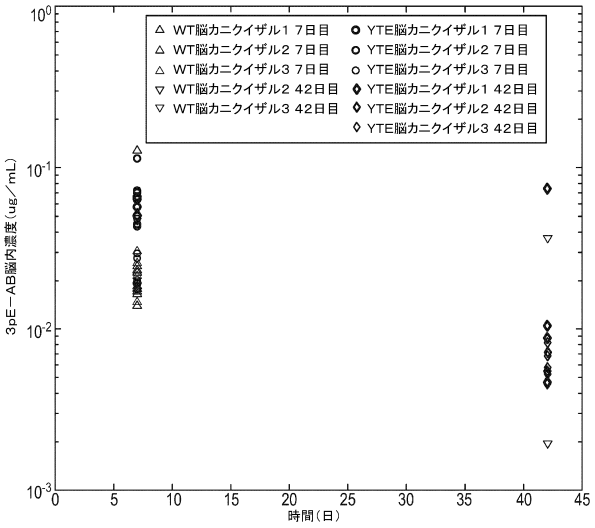
【図１０】


投与
V_C
Q
V_T
CL

【図１１】


3pE－AB濃度（μg／mL）
時間（日）
BAMB675 YTE mAb:
カニクイザルにおけるt1／2＝13．2078日
BAMB674 WT mAb:
カニクイザルにおけるt1／2＝8．232日
YTE血清カニクイザル1
YTE血清カニクイザル2
YTE血清カニクイザル3
WT血清カニクイザル1
WT血清カニクイザル2
WT血清カニクイザル3
YTE血清のデータフィッティング
WT血清のデータフィッティング

【図１２】



【配列表】

0007617848000001.app

フロントページの続き

(51)国際特許分類		FI		
C12N 15/13 (2006.01)		C12N	15/13	
C12N 15/63 (2006.01)		C12N	15/63	Z
C12P 21/08 (2006.01)		C12P	21/08	
A61K 39/395 (2006.01)		A61K	39/395	N
A61P 43/00 (2006.01)		A61P	43/00	105
A61P 25/28 (2006.01)		A61P	25/28	
A61P 21/00 (2006.01)		A61P	21/00	
A61P 29/00 (2006.01)		A61P	29/00	
A61P 25/00 (2006.01)		A61P	25/00	

(72)発明者 ヴァン ブロエック，ビアンカ
ベルギー国 ２３４０ ベルセ，トルンハウッサーヴェヒ ３０
(72)発明者 メルケン，マーク
ベルギー国 ２３４０ ベルセ，トルンハウッサーヴェヒ ３０
(72)発明者 エドワーズ，ウィルソン
アメリカ合衆国 ９２００７ カリフォルニア州，カーディフ バイ ザ シー，グラスゴー アベニュー １９４０
(72)発明者 シン，サンジャヤ
アメリカ合衆国 １９４７７ ペンシルベニア州，スプリング ハウス，マッキーン ロード １４００
(72)発明者 ルオ，ジンクァン
アメリカ合衆国 １９４７７ ペンシルベニア州，スプリング ハウス，マッキーン ロード １４００
(72)発明者 ラ ポルテ，シェリー
アメリカ合衆国 １９４７７ ペンシルベニア州，スプリング ハウス，マッキーン ロード １４００
(72)発明者 ガネサン，ラジクマール
アメリカ合衆国 １９４７７ ペンシルベニア州，スプリング ハウス，マッキーン ロード １４００
(72)発明者 ヒュアン，チチ
アメリカ合衆国 １９３５５ ペンシルベニア州，モルバーン，ドブス レーン ２２
審査官 伊達 利奈

(56)参考文献 国際公開第２０１８／０８３６２８（WO，A１）
国際公開第２０１７／１２３５１７（WO，A１）
国際公開第２０１２／０２１４６９（WO，A１）
米国特許出願公開第２０１３／０２９５０９５（US，A１）
国際公開第２０１７／００９４５９（WO，A２）

(58)調査した分野 (Int.Cl.，ＤＢ名)
Ｃ１２Ｎ １５／００
ＣＡｐｌｕｓ／ＭＥＤＬＩＮＥ／ＥＭＢＡＳＥ／ＢＩＯＳＩＳ（ＳＴＮ）
ＰｕｂＭｅｄ