

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第6190723号
(P6190723)

(45) 発行日 平成29年8月30日(2017.8.30)

(24) 登録日 平成29年8月10日(2017.8.10)

(51) Int.Cl.

F I

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

C 1 2 N 15/00 Z N A A

C O 7 K 16/22 (2006.01)

C O 7 K 16/22

C 1 2 N 1/15 (2006.01)

C 1 2 N 1/15

C 1 2 N 1/19 (2006.01)

C 1 2 N 1/19

C 1 2 N 1/21 (2006.01)

C 1 2 N 1/21

請求項の数 15 (全 190 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2013-542189 (P2013-542189)
 (86) (22) 出願日 平成23年12月1日(2011.12.1)
 (65) 公表番号 特表2014-507116 (P2014-507116A)
 (43) 公表日 平成26年3月27日(2014.3.27)
 (86) 国際出願番号 PCT/US2011/062963
 (87) 国際公開番号 W02012/075340
 (87) 国際公開日 平成24年6月7日(2012.6.7)
 審査請求日 平成26年12月1日(2014.12.1)
 (31) 優先権主張番号 61/418,832
 (32) 優先日 平成22年12月1日(2010.12.1)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

前置審査

(73) 特許権者 512127224
 アルダーバイオ ホールディングス エル
 エルシー
 アメリカ合衆国 89109 ネバダ、ラ
 スベガス、 コンベンション センター
 ドライブ 101、スイート 850
 (74) 代理人 110000855
 特許業務法人浅村特許事務所
 (72) 発明者 ダッツァー、ベンジャミン エイチ.
 アメリカ合衆国、ワシントン、シアトル、
 イー、フランクリン アヴェニュー 31
 24エイ.

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 抗NGF組成物およびその使用

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

(i) 配列番号2の軽鎖ポリペプチドおよび配列番号4の重鎖ポリペプチドを含む抗ヒトNGF抗体または抗体フラグメント；

(i i) 配列番号12の軽鎖ポリペプチドおよび配列番号14の重鎖ポリペプチドを含む抗ヒトNGF抗体または抗体フラグメント；

(i i i) 配列番号22の軽鎖ポリペプチドおよび配列番号24の重鎖ポリペプチドを含む抗ヒトNGF抗体または抗体フラグメント；

(i v) 配列番号32の軽鎖ポリペプチドおよび配列番号34の重鎖ポリペプチドを含む抗ヒトNGF抗体または抗体フラグメント；

(v) 配列番号42の軽鎖ポリペプチドおよび配列番号44の重鎖ポリペプチドを含む抗ヒトNGF抗体または抗体フラグメント；

(v i) 配列番号52の軽鎖ポリペプチドおよび配列番号54の重鎖ポリペプチドを含む抗ヒトNGF抗体または抗体フラグメント；

(v i i) 配列番号62の軽鎖ポリペプチドおよび配列番号64の重鎖ポリペプチドを含む抗ヒトNGF抗体または抗体フラグメント；

(v i i i) 配列番号72の軽鎖ポリペプチドおよび配列番号74の重鎖ポリペプチドを含む抗ヒトNGF抗体または抗体フラグメント；

(i x) 配列番号82の軽鎖ポリペプチドおよび配列番号84の重鎖ポリペプチドを含む抗ヒトNGF抗体または抗体フラグメント；

10

20

(x) 配列番号 9 2 の軽鎖ポリペプチドおよび配列番号 9 4 の重鎖ポリペプチドを含む抗ヒト NGF 抗体または抗体フラグメント；

(x i) 配列番号 1 0 2 の軽鎖ポリペプチドおよび配列番号 1 0 4 の重鎖ポリペプチドを含む抗ヒト NGF 抗体または抗体フラグメント；

(x i i) 配列番号 1 1 2 の軽鎖ポリペプチドおよび配列番号 1 1 4 の重鎖ポリペプチドを含む抗ヒト NGF 抗体または抗体フラグメント；

(x i i i) 配列番号 1 2 2 の軽鎖ポリペプチドおよび配列番号 1 2 4 の重鎖ポリペプチドを含む抗ヒト NGF 抗体または抗体フラグメント；

(x i v) 配列番号 1 3 2 の軽鎖ポリペプチドおよび配列番号 1 3 4 の重鎖ポリペプチドを含む抗ヒト NGF 抗体または抗体フラグメント；

(x v) 配列番号 1 4 2 の軽鎖ポリペプチドおよび配列番号 1 4 4 の重鎖ポリペプチドを含む抗ヒト NGF 抗体または抗体フラグメント；

(x v i) 配列番号 1 5 2 の軽鎖ポリペプチドおよび配列番号 1 5 4 の重鎖ポリペプチドを含む抗ヒト NGF 抗体または抗体フラグメント；

(x v i i) 配列番号 1 6 2 の軽鎖ポリペプチドおよび配列番号 1 6 4 の重鎖ポリペプチドを含む抗ヒト NGF 抗体または抗体フラグメント；

(x v i i i) 配列番号 1 7 2 の軽鎖ポリペプチドおよび配列番号 1 7 4 の重鎖ポリペプチドを含む抗ヒト NGF 抗体または抗体フラグメント；

(x i x) 配列番号 1 8 2 の軽鎖ポリペプチドおよび配列番号 1 8 4 の重鎖ポリペプチドを含む抗ヒト NGF 抗体または抗体フラグメント；および

(x x) 配列番号 1 9 2 の軽鎖ポリペプチドおよび配列番号 1 9 4 の重鎖ポリペプチドを含む抗ヒト NGF 抗体または抗体フラグメント

から選択される抗ヒト NGF 抗体または抗体フラグメント。

【請求項 2】

(i) 配列番号 1 の V_L 鎖ポリペプチドおよび配列番号 3 の V_H 鎖ポリペプチドを含む抗ヒト NGF 抗体または抗体フラグメント；

(i i) 配列番号 1 1 の V_L 鎖ポリペプチドおよび配列番号 1 3 の V_H 鎖ポリペプチドを含む抗ヒト NGF 抗体または抗体フラグメント；

(i i i) 配列番号 2 1 の V_L 鎖ポリペプチドおよび配列番号 2 3 の V_H 鎖ポリペプチドを含む抗ヒト NGF 抗体または抗体フラグメント；

(i v) 配列番号 3 1 の V_L 鎖ポリペプチドおよび配列番号 3 3 の V_H 鎖ポリペプチドを含む抗ヒト NGF 抗体または抗体フラグメント；

(v) 配列番号 4 1 の V_L 鎖ポリペプチドおよび配列番号 4 3 の V_H 鎖ポリペプチドを含む抗ヒト NGF 抗体または抗体フラグメント；

(v i) 配列番号 5 1 の V_L 鎖ポリペプチドおよび配列番号 5 3 の V_H 鎖ポリペプチドを含む抗ヒト NGF 抗体または抗体フラグメント；

(v i i) 配列番号 6 1 の V_L 鎖ポリペプチドおよび配列番号 6 3 の V_H 鎖ポリペプチドを含む抗ヒト NGF 抗体または抗体フラグメント；

(v i i i) 配列番号 7 1 の V_L 鎖ポリペプチドおよび配列番号 7 3 の V_H 鎖ポリペプチドを含む抗ヒト NGF 抗体または抗体フラグメント；

(i x) 配列番号 8 1 の V_L 鎖ポリペプチドおよび配列番号 8 3 の V_H 鎖ポリペプチドを含む抗ヒト NGF 抗体または抗体フラグメント；

(x) 配列番号 9 1 の V_L 鎖ポリペプチドおよび配列番号 9 3 の V_H 鎖ポリペプチドを含む抗ヒト NGF 抗体または抗体フラグメント；

(x i) 配列番号 1 0 1 の V_L 鎖ポリペプチドおよび配列番号 1 0 3 の V_H 鎖ポリペプチドを含む抗ヒト NGF 抗体または抗体フラグメント；

(x i i) 配列番号 1 1 1 の V_L 鎖ポリペプチドおよび配列番号 1 1 3 の V_H 鎖ポリペプチドを含む抗ヒト NGF 抗体または抗体フラグメント；

(x i i i) 配列番号 1 2 1 の V_L 鎖ポリペプチドおよび配列番号 1 2 3 の V_H 鎖ポリペプチドを含む抗ヒト NGF 抗体または抗体フラグメント；

10

20

30

40

50

(x i v) 配列番号 1 3 1 の V_L 鎖ポリペプチドおよび配列番号 1 3 3 の V_H 鎖ポリペプチドを含む抗ヒト NGF 抗体または抗体フラグメント；

(x v) 配列番号 1 4 1 の V_L 鎖ポリペプチドおよび配列番号 1 4 3 の V_H 鎖ポリペプチドを含む抗ヒト NGF 抗体または抗体フラグメント；

(x v i) 配列番号 1 5 1 の V_L 鎖ポリペプチドおよび配列番号 1 5 3 の V_H 鎖ポリペプチドを含む抗ヒト NGF 抗体または抗体フラグメント；

(x v i i) 配列番号 1 6 1 の V_L 鎖ポリペプチドおよび配列番号 1 6 3 の V_H 鎖ポリペプチドを含む抗ヒト NGF 抗体または抗体フラグメント；

(x v i i i) 配列番号 1 7 1 の V_L 鎖ポリペプチドおよび配列番号 1 7 3 の V_H 鎖ポリペプチドを含む抗ヒト NGF 抗体または抗体フラグメント；

(x i x) 配列番号 1 8 1 の V_L 鎖ポリペプチドおよび配列番号 1 8 3 の V_H 鎖ポリペプチドを含む抗ヒト NGF 抗体または抗体フラグメント；

(x x) 配列番号 1 9 1 の V_L 鎖ポリペプチドおよび配列番号 1 9 3 の V_H 鎖ポリペプチドを含む抗ヒト NGF 抗体または抗体フラグメント；および

(x x i) 配列番号 4 0 1 の軽鎖ポリペプチドおよび配列番号 4 0 2 の重鎖ポリペプチドを含む抗ヒト NGF 抗体または抗体フラグメント；

から選択される抗ヒト NGF 抗体または抗体フラグメント。

【請求項 3】

(i) s c F v、F a b、F a b'、または $F(a b')_2$ フラグメント；

(i i) 非グリコシル化されている抗体または抗体フラグメント；

(i i i) エフェクター機能、半減期、タンパク質分解および／またはグリコシル化を変更するよう修飾されている F c 領域を含有する抗体または抗体フラグメント；

(i v) ヒト抗体、ヒト化抗体、一本鎖抗体またはキメラ抗体；

(v) 検出可能標識または治療薬と直接的または間接的に結合されている抗体または抗体フラグメント；

(v i) I g G 1、I g G 2、I g G 3、または I g G 4 に由来するヒト F c を含む抗体または抗体フラグメント；

(v i i) NGF と p 7 5 および／または T r k A および／またはその多量体との会合を遮断または抑制する抗体または抗体フラグメント；

(v i i i) $10^{-4} s^{-1}$ 、 $5 \times 10^{-5} s^{-1}$ 、 $10^{-5} s^{-1}$ 、 $5 \times 10^{-6} s^{-1}$ 、 $10^{-6} s^{-1}$ 、 $5 \times 10^{-7} s^{-1}$ 、または $10^{-7} s^{-1}$ 以下のオフレート (K o f f) で NGF と結合する抗体または抗体フラグメント；

(i x) NGF と T r k A および／またはその多量体との会合を遮断または抑制する抗体または抗体フラグメント；

(x) NGF と T r k A および／または p 7 5 との相互作用を容易に感知できるほど遮断または抑制しない抗体または抗体フラグメント；

(x i) 検出可能部分または機能性部分から選択されるエフェクター部分をさらに含み、前記検出可能部分が、蛍光染料、酵素、基質、生物発光物質、放射性物質または化学発光物質であり、

前記機能性部分が、ストレプトアビジン、アビジン、ビオチン、細胞毒素、細胞毒性薬または放射性物質である抗体または抗体フラグメント；

(x i i) グリコシル化を変更するかまたは排除する突然変異を有する F c 領域を含む抗体または抗体フラグメント；

(x i i i) 水溶性ポリマーをさらに含む抗体または抗体フラグメント；および

(x i v) 少なくとも 1 つのポリエチレングリコールをさらに含む抗体または抗体フラグメント

から選択される、請求項 1 または 2 に記載の抗ヒト NGF 抗体または抗体フラグメント。

【請求項 4】

請求項 1、2 または 3 に記載の抗ヒト NGF 抗体または抗体フラグメントをコードする単数または複数の核酸配列を含む単離ポリヌクレオチド。

10

20

30

40

50

【請求項 5】

請求項 4 に記載の核酸配列を含むベクター。

【請求項 6】

請求項 4 に記載のポリヌクレオチドまたは請求項 5 に記載のベクターを含む組換え細胞であって、哺乳動物細胞、酵母細胞、細菌細胞、真菌細胞、植物細胞、または昆虫細胞から選択される、上記組換え細胞。

【請求項 7】

請求項 1、2 または 3 に記載の抗ヒト NGF 抗体または抗体フラグメントを含む薬学的組成物であって、

(i) NGF 発現細胞に関連した疾患または症状を治療する；

(i i) NGF 発現細胞に関連した疾患または症状の病状を改善または低減する；

(i i i) NGF と p 7 5 との会合を容易に感知できるほど抑制することなく、NGF と Trk A との会合を抑制することによって、疼痛を処置するかまたは個体における鎮痛作用を引き出す

ことのために使用される、上記薬学的組成物。

【請求項 8】

請求項 7 に記載の薬学的組成物であって、

(i) 前記疾患または症状が、炎症性疼痛、切開手術後疼痛、複合性局所疼痛症候群、癌疼痛、原発性骨癌疼痛、転移性骨癌疼痛、骨折痛、骨粗鬆症性骨折痛、熱傷に起因する疼痛、骨粗鬆症、痛風関節痛、鎌状赤血球症発症に関連した疼痛、肝細胞癌に関連した疼痛、乳癌に関連した疼痛、肝硬変に関連した疼痛、神経原性疼痛、神経障害性疼痛、侵害受容性疼痛、三叉神経痛、ヘルペス感染後神経痛、幻肢痛、繊維筋痛、月経痛、卵巣痛、反射性交感神経性ジストロフィー、骨関節炎痛、関節リウマチ疼痛、腰痛、糖尿病性神経障害、坐骨神経痛または片頭痛から選択される；

(i i) 前記組成物は、鎮痛薬、抗ヒスタミン薬、抗炎症薬または抗生物質から選択される別の治療薬と組合せて投与される；

(i i i) 前記疼痛が、術前処置、術後処置、筋肉骨格系への外傷または損傷、または慢性内臓痛に伴う疼痛と関連し、

前記慢性内臓痛が、月経困難、消化不良、逆流性食道炎、膵炎、内臓痛および過敏性腸症候群から選択される生理学的障害のためであり；

前記術後処置疼痛が安静時疼痛、機械的誘導性疼痛および／または熱誘導性疼痛を含み、前記安静時疼痛、機械的誘導性疼痛および／または熱誘導性疼痛が改善され、且つ

創傷治癒が有意に抑制されない；

(i v) 前記疼痛が、癌に関連した疼痛、神経障害性疼痛および神経原性疼痛から選択される；

(v) 前記頭蓋顔面痛または頭痛が、顎関節障害、片頭痛または三叉神経痛により引き起こされる；

(v i) 前記疼痛が、急性疼痛、慢性疼痛、歯痛、外傷による疼痛、外科的処置の疼痛、切断に起因する疼痛、膿瘍に起因する疼痛、灼熱痛、脱髄性疾患に関連した疼痛、三叉神経痛、癌に関連した疼痛、慢性アルコール中毒に関連した疼痛、卒中に関連した疼痛、視床痛症候群、糖尿病に関連した疼痛、後天性免疫不全症候群（「A I D S」）に関連した疼痛、毒素に関連した疼痛、化学療法に関連した疼痛、一般的頭痛、片頭痛、群発性頭痛、混合型血管性症候群に関連した疼痛、非血管性症候群に関連した疼痛、緊張型頭痛、全身性炎症疼痛、関節炎疼痛、リウマチ性疾患に関連した疼痛、狼瘡に関連した疼痛、骨関節炎疼痛、繊維筋痛、炎症性腸障害に関連した疼痛、過敏性腸症候群に関連した疼痛、炎症性眼障害に関連した疼痛、炎症性または不安定性膀胱障害に関連した疼痛、乾癬疼痛、炎症性成分での皮膚愁訴に関連した疼痛、日焼け疼痛、心臓炎疼痛、皮膚炎疼痛、筋炎疼痛、神経炎疼痛、膠原血管病に関連した疼痛、慢性炎症性症状に関連した疼痛、炎症性疼痛ならびに関連の痛覚過敏症および異痛症、神経障害性疼痛ならびに関連の痛覚過敏症または異痛症、糖尿病性神経障害性疼痛、交感神経依存性疼痛、求心路遮断症候群に関連し

10

20

30

40

50

た疼痛、喘息に関連した疼痛、上皮組織傷害または機能不全に関連した疼痛、単純ヘルペスに関連した疼痛、呼吸器、泌尿生殖器、消化器または血管領域での内臓運動の攪乱、創傷、熱傷、アレルギー性皮膚反応に関連した疼痛、心因性掻痒、白斑に関連した疼痛、一般的胃腸障害に関連した疼痛、結腸炎に関連した疼痛、胃潰瘍に関連した疼痛、十二指腸潰瘍に関連した疼痛、血管運動性鼻炎に関連した疼痛、アレルギー性鼻炎に関連した疼痛、気管支障害に関連した疼痛、月経困難、消化不良に関連した疼痛、逆流性食道炎に関連した疼痛、膵炎に関連した疼痛、または内臓痛である；

(v i i) 前記抗体または抗体フラグメントが、鼻内投与、頬投与、舌下投与または結膜投与を含む頭蓋顔面粘膜投与を介して投与され、イブプロフェン、ナプロキセン、ナプロシン、ジクロフェナク、ケトプロフェン、トルメチン、スリンダク、メフェナム酸、メクロフェナム酸、ジフルニサル、フルフェニサル、ピロキシカム、スドキシカム、イソキシカム、セレコキシブ、フォフェコキシブ、D U P - 6 9 7、フロスリド、メロキシカム、6-メトキシ-2-ナフチル酢酸、ナブメトンおよびニメスリドからなる群から選択される少なくとも1つのN S A I Dの投与を、任意でさらに包含する；

(v i i i) 前記疼痛が、骨癌疼痛であり、

前記骨癌疼痛が、骨で生じる癌、骨肉腫、骨に転移される癌、骨に転移される前立腺癌、骨に転移される乳癌、骨に転移される肺癌、骨に転移される肉腫、骨に転移される腎臓癌、または未確定組織から骨に転移される癌からである；

(i x) 前記抗体または抗体フラグメントが、神経根障害を伴う場合または伴わない場合の背部または頸部疼痛を処置するために用いられ、処置は、椎間円板（ここで、椎間円板は変性椎間円板である）を含む椎間円板領域に有効量の前記抗体または断片を提供することを包含する；

(x) 前記抗体または抗体フラグメントが、被験体における慢性前立腺炎および／または慢性骨盤痛症候群に関連した疼痛および／または下部尿路症状を処置するかまたは防止するために用いられ、

慢性前立腺炎および／または慢性骨盤痛症候群に関連した疼痛が、下腹部疼痛；骨盤疼痛；下部胃痛；膀胱痛；恥骨上疼痛；陰茎、精巣、陰囊および会陰における疼痛；尿道痛；性交疼痛；膀胱が満たされると増大し得る疼痛、圧迫または不快感；排尿障害および射精痛からなる群から選択される、

上記薬学的組成物。

【請求項9】

診断上有効な量の請求項1、2または3に記載の1つ以上の抗ヒトN G F抗体または抗体フラグメントを含む、N G Fを発現する細胞の存在を検出するためのキット。

【請求項10】

N G F発現疾患部位での抗体の検出を助長する放射性核種または蛍光体をさらに含む、請求項9に記載のキット。

【請求項11】

検出結果を利用して、

(i) 適切な治療レジメンの設計を助長するために用いるか；

(i i) 炎症性疼痛、切開手術後疼痛、複合性局所疼痛症候群、癌疼痛、原発性骨癌疼痛、転移性骨癌疼痛、骨折痛、骨粗鬆症性骨折痛、熱傷に起因する疼痛、骨粗鬆症疼痛、痛風関節痛、鎌状赤血球症発症に関連した疼痛、肝細胞癌に関連した疼痛、乳癌に関連した疼痛、肝硬変に関連した疼痛、神経原性疼痛、神経障害性疼痛、侵害受容性疼痛、三叉神経痛、ヘルペス感染後神経痛、幻肢痛、繊維筋痛、月経痛、卵巣痛、反射性交感神経性ジストロフィー、骨関節炎疼痛、関節リウマチ疼痛、腰痛、糖尿病性神経障害、坐骨神経痛または片頭痛のための有効な治療プロトコルの設計のための立案レジメンの一部として用いられ、

前記治療プロトコルが、抗ヒスタミン薬、抗炎症薬または抗生物質のうちの1つ以上の投与を任意で包含する；

請求項9又は10に記載のキット。

【請求項 1 2】

前記抗体をコードする 1 つ以上の異種ポリヌクレオチドを含有する組換え宿主細胞または非ヒトトランスジェニック動物または植物における、請求項 1、2 または 3 に記載の抗体の製造方法。

【請求項 1 3】

請求項 1 2 に記載の方法であって、

(i) 前記宿主細胞が細菌、真菌、酵母、哺乳類、鳥類または昆虫細胞である；
 (i i) 前記宿主細胞が、多倍数体酵母培養である；
 (i i i) 前記酵母が以下の属から選択される：アルキシオザイマ (*Arxiozyma*)；アスコボトリオザイマ (*Ascobotryozyma*)；シテロミセス (*Citeromyces*)；デバリオミセス (*Debaryomyces*)；デッケラ (*Dekkera*)；エレモテシウム (*Eremothecium*)；イサチェンキア (*Issatchenkia*)；カザフスタニア (*Kazachstania*)；クルイベロミセス (*Kluyveromyces*)；コダマエア (*Kodamaea*)；ロデロミセス (*Lodderomyces*)；パキシソレン (*Pachysolen*)；ピキア (*Pichia*)；サッカロミセス (*Saccharomyces*)；サツルニスポラ (*Saturnispora*)；テトラピシスポラ (*Tetrapisispora*)；トルラスポラ (*Torulaspora*)；ウィリオプシス (*Williopsis*) またはチゴサッカロミセス (*Zygosaccharomyces*)；
 (iv) 前記宿主細胞が、ピキア・パストリス (*Pichia pastoris*)、ピキア・メタノリカ (*Pichia methanolica*) またはハンセンラ・ポリモルファ (*Hansenula polymorpha* (*Pichia angusta*)) から選択される；

(v) 前記異種ポリヌクレオチドが、配列番号 1 および配列番号 3；配列番号 1 1 および配列番号 1 3；配列番号 2 1 および配列番号 2 3；配列番号 3 1 および配列番号 3 3；配列番号 4 1 および配列番号 4 3；配列番号 5 1 および配列番号 5 3，配列番号 6 1 および配列番号 6 3；配列番号 7 1 および配列番号 7 3；配列番号 8 1 および配列番号 8 3；配列番号 9 1 および配列番号 9 3；配列番号 1 0 1 および配列番号 1 0 3；配列番号 1 1 1 および配列番号 1 1 3；配列番号 1 2 1 および配列番号 1 2 3；配列番号 1 3 1 および配列番号 1 3 3；配列番号 1 4 1 および配列番号 1 4 3；配列番号 1 5 1 および配列番号 1 5 3；配列番号 1 6 1 および配列番号 1 6 3；配列番号 1 7 1 および配列番号 1 7 3；配列番号 1 8 1 および配列番号 1 8 3；配列番号 1 9 1 および配列番号 1 9 3；或いは配列番号 4 0 1 および配列番号 4 0 2 に含有されるポリペプチドをコードする配列を含む；及び／又は

(v i) 前記異種ポリヌクレオチドが、配列番号 2 および配列番号 4 に含有されるポリペプチド；または配列番号 1 2 および配列番号 1 4 に含有されるポリペプチド；または配列番号 2 2 および配列番号 2 4 に含有されるポリペプチド；または配列番号 3 2 および配列番号 3 4 に含有されるポリペプチド；または配列番号 4 2 および配列番号 4 4 に含有されるポリペプチド；または配列番号 5 2 および配列番号 5 4 に含有されるポリペプチド；または配列番号 6 2 および配列番号 6 4 に含有されるポリペプチド；または配列番号 7 2 および配列番号 7 4 に含有されるポリペプチド；または配列番号 8 2 および配列番号 8 4 に含有されるポリペプチド；または配列番号 9 2 および配列番号 9 4 に含有されるポリペプチド；または配列番号 1 0 2 および配列番号 1 0 4 に含有されるポリペプチド；または配列番号 1 1 2 および配列番号 1 1 4 に含有されるポリペプチド；または配列番号 1 2 2 および配列番号 1 2 4 に含有されるポリペプチド；または配列番号 1 3 2 および配列番号 1 3 4 に含有されるポリペプチド；または配列番号 1 4 2 および配列番号 1 4 4 に含有されるポリペプチド；または配列番号 1 5 2 および配列番号 1 5 4 に含有されるポリペプチド；または配列番号 1 6 2 および配列番号 1 6 4 に含有されるポリペプチド；または配列番号 1 7 2 および配列番号 1 7 4 に含有されるポリペプチド；または配列番号 1 8 2 および配列番号 1 8 4 に含有されるポリペプチド；または配列番号 1 9 2 および配列番号 1 9 4 をコードする配列を含む；

上記方法。

【請求項 1 4】

請求項 1、2 または 3 に記載の少なくとも 1 つの N G F 抗体または抗体フラグメント、

ならびに製薬上許容可能な担体を含有する薬学的または診断用組成物。

【請求項15】

少なくとも1つの安定化剤をさらに含む請求項14に記載の薬学的または診断用組成物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

(関連出願)

本出願では、2010年12月1日に出願された米国特許仮出願第61/418,832号に対する優先権の利益を主張し、上記出願の内容は、その全体が参照により本明細書に組み込まれるものとする。さらに本出願は、代理人整理番号67858-740003 (割り当てられる見込みの通し番号)、題名「METHODS OF PREVENTING OR TREATING PAIN USING ANTI-NGF ANTIBODIES THAT SELECTIVELY INHIBIT THE ASSOCIATION OF NGF WITH TRKA, WITHOUT AFFECTING THE ASSOCIATION OF NGF WITH P75; 整理番号67858-740004 (割り当てられる見込みの通し番号)、題名「METHODS OF PREVENTING INFLAMMATION AND TREATING PAIN USING ANTI-NGF COMPOSITIONS」; 整理番号67858-740005 (割り当てられる見込みの通し番号)、題名「METHODS OF PREVENTING OR TREATING PAIN USING ANTI-NGF ANTIBODIES」、および整理番号67858-740006 (割り当てられる見込みの通し番号)、題名「NGF ANTIBODIES AND USE THEREOF」に関するものであり、上記出願はすべて、Alder Biopharmaceuticals社に割り当てられ、また2011年12月1日に出願されたものであり、その内容全体が参照により組み込まれるものとする。

【0002】

(発明の背景)

(発明の分野)

本発明は、ヒト神経成長因子(以下「NGF」)に対して結合特異性を有する抗体およびそのフラグメント(Fabフラグメントを含む)に関する。また本発明は、前記抗体またはそのフラグメントを投与することにより、NGFに関連する疾患および障害をスクリーニングする方法、ならびにNGFに関連する疾患および障害を予防または治療する方法にも関する。

【0003】

また本発明は、ヒト神経成長因子(以下「NGF」)に対して結合特異性を有する一価薬剤(Fabフラグメントおよび以下で確認されるその他の一価のNGF結合剤を含む)および患者の疼痛の治療方法における1つ以上の前記一価薬剤の使用方法にも関し、この方法では、1つ以上の一価薬剤投与後の患者に炎症性応答の実質的な増加がみられない。上記一価薬剤は任意に、その循環半減期を延長するために、ポリエチレングリコール(PEG)その他の水溶性ポリマーなどの付加などにより修飾されていてもよい。

【0004】

本発明は、NGFとp75との結合を大幅に阻害することなくNGFとTrkAとの結合を選択的に阻害するNGFアンタゴニスト化合物を少なくとも1つ含み、好ましくは上記NGFアンタゴニスト化合物が、ヒト神経成長因子(以下「NGF」)に対して結合特異性を有する抗体またはそのフラグメント(Fabフラグメントおよび以下で確認されるその他の一価薬剤)を含む抗疼痛薬、ならびに患者の疼痛を治療するために1つ以上の前記NGFアンタゴニスト化合物、例えば抗体およびそのフラグメントを使用する方法に関する。抗体およびフラグメントを例示するが、適当な結合アッセイおよび/または機能アッセイを用いて、同様のアンタゴニスト特性を有する他のNGFアンタゴニスト、例えば

、NGFとp75との結合を大幅に阻害することなくNGFとTrkAとの結合を選択的に阻害するNGFまたはTrkAのポリペプチドフラグメント、小分子、アンチセンスRNAおよびサイレンシングRNAなども選択され得ることが予想される。上記化合物、例えば抗体および抗体フラグメントは、それを必要とする対象の様々な種類の疼痛を治療または予防するために、単独で投与する単独療法として使用してもよく、また他の活性作用物質、例えばNSAIDもしくはオピオイド鎮痛剤と併用してもよい。さらに具体的には、本発明は、NGFとp75との結合を大幅に阻害することなくNGFとTrkAとの結合を阻害する抗ヒトNGF抗体またはそのフラグメントを含む、一価薬剤に関する。上記抗体およびフラグメント、例えば一価薬剤は、循環半減期に影響を及ぼすために、例えばPEGその他のポリマーの付加、または検出可能な薬剤もしくは機能性薬剤のような他の部分の付加などにより修飾されていてもよい。上記一価薬剤の例としては、Fab、Fab'、Fv、scFvの各フラグメント、SMIPs（小分子免疫薬剤（small molecule immunopharmaceuticals））、キャメルボディ（camel body）、ナノボディ（nanobody）、IgNAR、MetMabに類似した一価抗体分子またはその1つ以上の組合せが挙げられる。

10

【0005】

さらにそれに関連して、本発明は、患者において疼痛を治療するまたは鎮痛作用を誘発する新規な方法に関するものであり、この方法は、NGFとp75との結合を大幅に阻害することなくNGFとTrkAとの結合を選択的に阻害する任意のNGFアンタゴニスト化合物を投与することを含む。好ましくは上記アンタゴニストは、NGFとp75との結合を大幅に阻害することなくNGFとTrkAとの結合を阻害する、抗ヒトNGF抗体またはそのフラグメントを含む。さらに本発明は、NGFとp75との結合を阻害し、加えてNGFとTrkAとの結合を阻害し得る、第二の抗NGF抗体またはフラグメントの投与をさらに含む、疼痛の治療方法を任意に含む。

20

【背景技術】

【0006】

（関連技術の説明）

神経成長因子（NGF）（ベータ神経成長因子（ベータBeta-NGF）としても知られる）は、18アミノ酸のシグナルペプチド切断後に長さが222アミノ酸の成熟タンパク質として産生される。NGFをコードする遺伝子は染色体1p13.1上にある。生物学的に活性な形態のNGFは、ホモ二量体化して、さらに大きな複合体に組み込まれる分泌タンパク質である。NGFは、構造的に関連したタンパク質のグループであるニューロトロフィン（NT）のメンバーであり、ほかにも脳由来神経栄養因子（BDNF）、NT-3およびNT-4/5がニューロトロフィンに含まれる（Wymanら, Gene Therapy（1999）, 6:1648-1660）。NTは特定の種類のニューロンおよび神経伝達物質系の生存を支え、支配ニューロンの標的細胞により産生される（同上）。前脳基底部、黒質、脳幹、皮質および脊髄が、NGFに応答することが示されている神経系領域である（同上）。

30

【0007】

NTはすべて、p75として特定される低親和性受容体と結合する（Sarchielliら, Expert Rev. Neurotherapeutics（2004）, 4（1）:115-127）。NGFは高親和性ニューロトロフィン受容体TrkAと選択的に結合し、この受容体に対する高い親和性を示す（同上）。最近、in vivoでは、NGFが筋原性分化および筋肉修復に必要な発生的に制御されるシグナル伝達経路において、その低親和性受容体p75を介して作用するということが示されている（Depontiら, Mol. Biol. Cell（2009）, 20:3620-3627）。

40

【0008】

またNGFは、成体動物において疼痛シグナル伝達系と相互作用することも示されており、多くの種では局所または全身投与すると痛覚過敏の原因となる（Sarchielliら, Expert Rev. Neurotherapeutics（2004）, 4（

50

1) : 115-127)。NGFは、ラットのCSF内に注入すると疼痛様反応を誘発することが示されており、また慢性疼痛を維持することが示されている。さらにNGFは、8～12時間後にみられる機械的異痛症の発症および二次疼痛反応の一因となることが示されている（同上）。

【0009】

疼痛には、特定の麻薬または非ステロイド性抗炎症薬（NSAIDs）を投与して対処することが多い。しかし、このような治療薬の投与は特定の負の結果をもたらすことがある。NSAIDsは腎不全、腸出血および肝機能障害を引き起こす可能性がある。麻薬は嘔気、嘔吐、精神機能障害および中毒を引き起こす可能性がある。したがって、上記のような負の結果を避けるために疼痛の別の治療法を特定することが望ましい。

10

【0010】

NGFは、特に限定されないが広範な疾患および障害に関連する疼痛、例えば癌関連の疼痛、神経障害性疼痛および神経原性疼痛などを含めた数多くの疾患および障害に関与すると考えられている。NGFが広範な疼痛関連の疾患および障害関与すると考えられていることから、NGFに関連した疾患および障害、特に疼痛に関連した疾患および障害の予防または治療に有用な組成物および方法が当該技術分野において必要とされている。特に好適な抗NGF組成物は、患者に投与した際に炎症などの有害反応が最小である、またはそれを最小限にする組成物である。疼痛などのNGFに関連した疾患または障害を軽減または抑制する組成物または方法は、それを必要とする患者に有用である。

【発明の概要】

20

【0011】

（発明の概要）

本発明は、NGFに対する結合特異性を有する特異的抗体およびそのフラグメント、特に所望のエピトープ特異性、高い親和性もしくはアビディティおよび／または機能特性を有する抗体に関する。本発明の別の実施形態は、本明細書に記載のV_H、V_LおよびCDRポリペプチドの配列を含む本明細書に記載の抗体、ならびにそれをコードするポリヌクレオチドに関する。

【0012】

本発明の好適な実施形態は、NGFと結合することができ、かつ／またはNGFがp75受容体およびTrkA受容体の両方と結合することにより仲介される生物活性を阻害することができる、キメラ抗体またはヒト化抗体およびそのフラグメント（Fabフラグメントを含む）に関する。本発明の別の好適な実施形態は、NGFと結合することができ、かつNGFとp75受容体との結合により仲介される生物活性を大幅に阻害することなく、NGFとTrkA受容体との結合により仲介される生物活性を選択的に阻害することができる、キメラ抗体またはヒト化抗体およびそのフラグメントに関する。

30

【0013】

本発明の別の好適な実施形態では、完全長抗体およびそのFabフラグメントが、歩行分析により測定されるように、マウスモデルにおいて疼痛をin vivoで有意に軽減することができる（本明細書の実施例に記載されている）。本発明の特に好適な実施形態は、疼痛を緩和または治療する方法におけるFab抗体フラグメントの使用に関する。本発明の別の好適な実施形態では、NGFに対する結合特異性を有する一価薬剤（本明細書に記載の完全長抗体のFabフラグメントなど）が、マウスモデルにおいて歩行分析後にin vivoで示されるように、同じ濃度で投与した完全長抗体と比べて実質的に炎症を増大させることなく患者の疼痛を緩和または治療するのに有用である。

40

【0014】

本発明の別の実施形態では、キメラ抗体またはヒト化抗体およびそのフラグメント（Fabフラグメントを含む）が、NGFと結合してTF1細胞の増殖を阻害することができる。本発明の別の実施形態では、キメラ抗体またはヒト化抗体およびそのフラグメント（Fabフラグメントを含む）が、NGFと結合してPC-12の神経突起伸長を阻害することができる。

50

【0015】

本発明の別の実施形態では、上記の抗体およびヒト化型抗体は、ウサギ免疫細胞（Bリンパ球）に由来し、またヒト生殖系列配列に対するその相同性（配列同一性）に基づいて選択され得る。上記抗体は、必要な配列修飾が最小限であるか、または配列修飾が不要であるため、ヒト化後の機能特性の保持が容易であり得る。本発明のさらなる実施形態は、例えばウサギ免疫細胞由来のV_H、V_LおよびCDRポリペプチドを含む抗NGF抗体に由来するフラグメントならびにそれをコードするポリヌクレオチド、ならびにNGF、および／またはNGF／p75複合体およびNGF／TrkA複合体と結合することができる新規な抗体およびポリペプチド組成物の作出における、上記抗体フラグメントおよびそれをコードするポリヌクレオチドの使用に関する。

10

【0016】

また本発明は、1つ以上の機能的部分または検出可能な部分とコンジュゲートした抗NGF抗体およびその結合フラグメントのコンジュゲートも企図する。また本発明は、前記キメラまたはヒト化抗NGF抗体、抗NGF／p75複合体抗体または抗NGF／TrkA複合体抗体およびその結合フラグメントを作製する方法も企図する。一実施形態では、結合フラグメントとしては、特に限定されないが、Fab、Fab'、F(ab')₂、Fv、scFvの各フラグメント、SMIPs（小分子免疫薬剤（small molecule immunopharmaceuticals））、キャメルボディ（camel body）、ナノボディ（nanobody）およびIgNARが挙げられる。

20

【0017】

本発明の実施形態は、NGFまたはその異常発現に関連した疾患および障害の診断、評価および治療での抗NGF抗体およびその結合フラグメントの使用に関する。また本発明は、NGFまたはその異常発現に関連した疾患および障害の診断、評価および治療での抗NGF抗体のフラグメントの使用も企図する。本発明の他の実施形態は、組換え宿主細胞、例えば、CHO、NSOもしくはHEK293細胞などの哺乳動物細胞、植物細胞、または酵母細胞（例えば、二倍体ピキア属（Pichia）のような二倍体酵母）その他の酵母菌株などでの抗NGF抗体またはそのフラグメントの生成に関する。

【0018】

また本発明は、患者の炎症性応答を実質的に増大させることなく疼痛を治療する方法にも関する。本発明の別の実施形態は、特異的抗体およびそのフラグメントに由来し、NGFに対する結合特異性を有する抗ヒトNGF一価薬剤、特に所望のエピトープ特異性、高い親和性もしくはアビディティおよび／または機能特性を有する一価薬剤を企図する。本発明の別の実施形態は、本明細書に記載の抗体に由来し、NGFに対する結合特異性を有する抗ヒトNGF一価薬剤であって、本明細書に記載のV_H、V_LおよびCDRポリペプチドの配列を含む一価薬剤、ならびにそれをコードするポリヌクレオチドに関する。このような一価薬剤の例としては、NGFと結合するFab、Fab'、Fv、scFvの各フラグメント、SMIPs（小分子免疫薬剤（small molecule immunopharmaceuticals））、キャメルボディ（camel body）、ナノボディ（nanobody）、IgNAR、MetMabに類似した一価抗体分子またはその1つ以上の組合せが挙げられる。

30

40

【0019】

いくつかの実施形態では、上記一価薬剤は、NGFとTrkAおよび／またはp75との相互作用を遮断または阻害する。他の実施形態では、上記一価薬剤は、循環半減期を修正するために、PEG化または他の水溶性ポリマーの付加などにより化学修飾されていてもよい。

【0020】

本発明の好適な実施形態では、本明細書に記載の抗体Fabフラグメントのような抗ヒトNGF一価薬剤は、歩行分析により測定されるように、マウスモデルにおいて疼痛をin vivoで有意に軽減することができる（本明細書の実施例に記載されている）。本発明の特に好適な実施形態は、疼痛を緩和または治療する方法における抗ヒトNGFの一

50

価Fab、Fab'、Fv、scFvの各フラグメント、SMIPs（小分子免疫薬剤（small molecule immunopharmaceuticals）、キャメルボディ（camel body）、ナノボディ（nanobody）、IgNAR、MetMabに類似した一価抗体分子またはその1つ以上の組合せの使用に関する。本発明の別の好適な実施形態では、NGFに対する結合特異性を有する一価薬剤（完全長本明細書に記載の抗体のFabフラグメントなど）、あるいはNGFに対する結合特異性を有するFab'、Fv、scFvの各フラグメント、SMIPs（小分子免疫薬剤（small molecule immunopharmaceuticals）、キャメルボディ（camel body）、ナノボディ（nanobody）、IgNAR、MetMabに類似した一価抗体分子またはその1つ以上の組合せは、マウスモデルにおいて歩行分析後にin vivoで示されるように、同じ濃度で投与した完全長抗体と比べて実質的に炎症を増大させることなく患者の疼痛を緩和または治療するのに有用である。

10

【0021】

本発明の別の実施形態では、上記一価薬剤は、ウサギ免疫細胞（Bリンパ球）由来の親抗体およびヒト化型抗体に由来し、任意にヒト生殖系列配列に対するその相同性（配列同一性）に基づいて選択され得る。上記親抗体は、一価薬剤の入手源として使用する前に、必要な配列修飾が最小限であるか、または配列修飾が不要であるため、ヒト化後の機能特性の保持が容易であり得る。本発明のさらなる実施形態は、例えばウサギ免疫細胞由来のV_H、V_LおよびCDRポリペプチドを含む抗ヒトNGF抗体に由来する抗ヒトNGF一価薬剤ならびにそれをコードするポリヌクレオチド、ならびに実質的に患者の炎症性応答を増大させることなく、NGFと結合し、前記患者の疼痛を軽減することができる前記一価薬剤を含む新規な一価薬剤および組成物の作出における、上記抗体およびそのフラグメントおよびそれをコードするポリヌクレオチドの使用に関する。上述のように、いくつかの実施形態では、上記一価薬剤は、NGFとTrkAおよび／またはp75との相互作用を遮断または阻害する。上記一価薬剤の例としては、NGFに対する結合特異性を有するFab、Fab'、Fv、scFvの各フラグメント、SMIPs（小分子免疫薬剤（small molecule immunopharmaceuticals）、キャメルボディ（camel body）、ナノボディ（nanobody）、IgNAR、MetMabに類似した一価抗体分子またはその1つ以上の組合せが挙げられる。好ましくは上記のものは、本明細書に例示される抗体および／またはこれと同じエピトープ特異性を有する抗体のCDRを含んでいる。

20

30

【0022】

また本発明は、1つ以上の機能的部分または検出可能な部分、例えば、半減期に影響を及ぼす部分または一価薬剤の他の治療特性に影響を及ぼす薬剤とコンジュゲートした一価薬剤のコンジュゲートも企図する。また本発明は、前記キメラまたはヒト化抗NGF一価薬剤を作製する方法も企図する。一実施形態では、一価薬剤としては、特に限定されないが、Fab、Fab'、Fv、scFvの各フラグメント、SMIPs（小分子免疫薬剤（small molecule immunopharmaceuticals）、MetMab様抗体分子、キャメルボディ（camel body）、ナノボディ（nanobody）およびIgNARが挙げられる。本発明の実施形態は、NGFまたはその異常発現に関連した疾患および障害診断、評価および治療での抗NGF一価薬剤の使用に関する。上述のように、いくつかの実施形態では、上記一価薬剤は、NGFとTrkAおよび／またはp75との相互作用を遮断または阻害する。

40

【0023】

また本発明は、NGFまたはその異常発現に関連した疾患および障害の診断、評価および治療での一価薬剤の使用も企図する。

【0024】

また本発明は、疼痛を治療する方法、ならびにその方法で使用する、NGFに対する結合特異性を有する抗体およびそのフラグメント、特に疼痛の治療において所望のエピトープ特異性、高い親和性もしくはアビディティおよび／または機能特性を有する抗体を含

50

む組成物にも関する。さらに具体的には、本発明は、NGFアンタゴニスト、例えば、小分子、ポリペプチド、核酸、好ましくは抗ヒトNGF抗体またはNGFとp75との結合を大幅に阻害することなくNGFとTrkAとの結合を阻害する一価および二価抗体フラグメントを含めたそのフラグメントに関する。上記抗体およびフラグメント、例えば一価薬剤は、循環半減期に影響を及ぼすために、例えばPEGその他のポリマーの付加、または検出可能な薬剤もしくは機能性薬剤のような他の部分の付加などにより修飾されていてもよい。上記一価薬剤の例としては、Fab、Fab'、Fv、scFvの各フラグメント、SMIPs（小分子免疫薬剤（small molecule immunopharmaceuticals））、キャメルボディ（camelbody）、ナノボディ（nanobody）、IgNAR、MetMabに類似した一価抗体分子またはその1つ以上の組合せが挙げられる。

10

【0025】

また本発明は、疼痛を治療する方法、ならびにその方法で使用する、NGFに対する結合特異性を有する抗体およびそのフラグメント、特に疼痛の治療において所望のエピトープ特異性、高い親和性もしくはアビディティおよび／または機能特性を有する抗体を含む組成物にも関する。さらに具体的には、本発明は、NGFアンタゴニスト、例えば、小分子、ポリペプチド、核酸、好ましくは抗ヒトNGF抗体またはNGFとp75との結合を大幅に阻害することなくNGFとTrkAとの結合を阻害する一価および二価抗体フラグメントを含めたそのフラグメントに関する。さらに本発明は、疼痛を治療する方法、ならびにその方法で使用する、抗ヒトNGF抗体またはNGFとTrkAとの結合およびNGFとp75との結合を阻害する一価および二価抗体フラグメントを含めたそのフラグメントを含む組成物にも関する。上記抗体およびフラグメント、例えば一価薬剤は、循環半減期に影響を及ぼすために、例えばPEGその他のポリマーの付加、または検出可能な薬剤もしくは機能性薬剤のような他の部分の付加などにより修飾されていてもよい。上記一価薬剤の例としては、Fab、Fab'、Fv、scFvの各フラグメント、SMIPs（小分子免疫薬剤（small molecule immunopharmaceuticals））、キャメルボディ（camelbody）、ナノボディ（nanobody）、IgNAR、MetMabに類似した一価抗体分子またはその1つ以上の組合せが挙げられる。

20

【0026】

本発明は特に、MetMab分子に類似したNGFと結合する一価抗体分子を含む。MetMabとは、Metに特異的な一価抗体のことである（Metとは、Parkら、Proc. Natl. Acad. Sci. 84, 7479-（1987）に記載されているヌクレオチド配列によりコードされるタンパク質またはそのフラグメント、ならびに特に限定されないが、対立遺伝子変異体、スプライス変異体、誘導変異体、置換変異体、欠失変異体および／または挿入変異体、融合ポリペプチドおよび種間のホモログを含む関連ポリペプチドのことである）。MetMab抗体は、OA-5d5（Genentech）を含めた様々な名称で知られている一価抗体であり、ほかにも、特に片腕5d5、5d5、MetMab、PRO143966と呼ばれている）。抗体OA-5d5とその構造および特性、ならびにその作製方法および使用方法が米国特許出願公開第2007/0092520号に記載されている。一実施形態では、本発明による抗NGF抗体は、Fc領域と連結した単一のFab領域を含み得る。このような実施形態では、本発明の抗体は、本明細書に記載の軽鎖および重鎖の可変ドメインを含み得る。このような実施形態では、抗体は一価であり、インタクトなFc領域を含み得る。別のこのような実施形態では、例えば国際公開第2005/063816号に記載されているように、Fc領域は少なくとも1つの突出部分（ノブ）と少なくとも1つのくぼみ部分（ホール）とを含み、突出部分とくぼみ部分が存在することにより、突出部分を含むFcポリペプチドと、くぼみ部分を含むFcポリペプチドとの間での複合体の形成が増強される。一実施形態では、本発明の抗体のFc領域は、第一のFcポリペプチドと第二のFcポリペプチドとを含んでよく、第一および第二のポリペプチドはそれぞれ、野生型ヒトFcに対して1つ以上の変異を含

30

40

50

む。一実施形態では、くぼみ部分の変異がT 3 6 6 S、L 3 6 8 Aおよび／またはY 4 0 7 Vである。別の実施形態では、突出部分の変異がT 3 6 6 Wである。特定の実施形態では、本発明による一価抗体は、国際公開第2 0 0 5 / 0 6 3 8 1 6号に記載されているように合成された片腕抗体を含み得る。このような実施形態では、片腕抗体は、国際公開第2 0 0 5 / 0 6 3 8 1 6号に記載されているように「ノブ」および「ホール」を構成するFcの変異を含み得る。例えば、ホールの変異がFcポリペプチドのT 3 6 6 A、L 3 6 8 Aおよび／またはY 4 0 7 Vのうちの1つ以上であり、くぼみ部分の変異がT 3 6 6 Wであり得る。

【0027】

また本発明は、特に限定されないが、Ab 1、Ab 2、Ab 3、Ab 4、Ab 5、Ab 6、Ab 7、Ab 8、Ab 9、Ab 10、Ab 11、Ab 12、Ab 13、Ab 14、Ab 15、Ab 16、Ab 17、Ab 18、Ab 19、Ab 20またはAb 21から選択される抗NGF抗体を含めた、本明細書に開示される抗体または抗体フラグメントと同じNGFエピトープと結合し、かつ／またはNGFとの結合に関して抗NGF抗体と競合する抗ヒトNGF一価薬剤にも関する。

【0028】

さらにそれに関連して、本発明は、患者において疼痛を治療するまたは鎮痛作用を誘発する新規な方法に関するものであり、この方法は、有効量のNGFアンタゴニスト、例えば、NGFとp 7 5との結合を大幅に阻害することなくNGFとTrk Aとの結合を阻害する抗ヒトNGF抗体またはそのフラグメントを投与することを含む。本発明は、NGFとp 7 5との結合を大幅に阻害することなくNGFとTrk Aとの結合を阻害する新規な抗ヒトNGF抗体およびそのフラグメントを複数提供する。上記抗体およびフラグメントは、単独療法として使用してもよく、また他の鎮痛剤を含めた他の活性作用物質ならびにNGFとp 7 5との相互作用を阻害するものを含めた他の抗NGF抗体および抗体フラグメントと併用してもよい。

【0029】

さらに本発明は、NGFとp 7 5との結合を大幅に阻害することなくNGFとTrk Aとの結合を阻害する、Fab、Fab'、F(ab')₂、Fv、scFvの各フラグメント、SMIPs（小分子免疫薬剤（small molecule immunopharmaceuticals））、キャメルボディ（camel body）、ナノボディ（nanobody）およびIgNARなどの二価および一価フラグメントを含めた他の抗ヒトNGF抗体またはそのフラグメントを生成、同定および単離する方法も提供する。本発明の別の実施形態は、本明細書に記載のV_H、V_LおよびCDRポリペプチドの配列を含む本明細書に記載の抗体およびそれをコードするポリヌクレオチドを使用して、NGFとTrk Aとの結合を選択的に阻害し、かつNGFとp 7 5との結合を阻害しないことにより疼痛を治療または予防する方法に関する。本発明は、疼痛の管理に治療上有用である新規なヒトモノクローナル抗体ならびにそのフラグメントおよびコンジュゲートを提供する。

【0030】

本発明は特に、2種類の新規な抗体および抗体フラグメントを提供し、第一の種類は神経成長因子（NGF）と結合して、NGFとp 7 5との結合を大幅に阻害することなくNGFとTrk Aとの結合を阻害するものであり、第二の種類は神経成長因子（NGF）と結合して、NGFとTrk Aとの結合を阻害し、さらにNGFとp 7 5との結合を阻害する。2種類の抗体および抗体フラグメントはともに、疼痛、例えば、癌関連の疼痛、片頭痛、術前または術後関連の疼痛および他の疼痛関連の状態を治療または予防するのに有用である。好ましくは、モノクローナル抗体またはフラグメントは、NGFの生物活性を中和し、NGF仲介による疼痛反応、すなわち、Trk A経路を有する疼痛反応の影響を緩和するのに有用なヒトモノクローナル抗体もしくはヒト化モノクローナル抗体またはそのフラグメントもしくはコンジュゲートである。

【0031】

一態様では、本発明は、神経成長因子（NGF）と結合して、NGFとp75との結合を大幅に阻害することなくNGFとTrkAとの結合を阻害する、本発明によるNGF特異的抗体もしくは抗体フラグメントまたは他のNGFアンタゴニストを投与することにより、術後疼痛（互換的に「切開後疼痛」また「外傷後疼痛」とも称する）を予防または治療する方法を特徴するものであり、また別の態様では、神経成長因子（NGF）と結合して、NGFとTrkAとの結合およびNGFとp75との結合を阻害するNGFアンタゴニスト（本発明による抗NGF抗体またはフラグメント）を用いた、同様の方法が提供される。外科手術または切開創傷もしくは外傷性創傷により生じる疼痛を含めた、術後疼痛により生じる疼痛の抑制または遮断がこれに含まれる。さらに本発明は、前記疼痛適応症の治療または予防、好ましくはヒト治療での使用に適した医薬組成物を提供し、この医薬組成物は、神経成長因子（NGF）と結合して、NGFとp75との結合を大幅に阻害することなくNGFとTrkAとの結合を阻害する、少なくとも1つの本発明によるNGF特異的抗体もしくは抗体フラグメントの有効量、または神経成長因子（NGF）と結合して、NGFとTrkAとの結合およびNGFとp75との結合をともに阻害する、少なくとも1つの本発明によるNGF特異的抗体もしくは抗体フラグメントの有効量を含む。以下で述べるように、上記組成物は、様々な経路および投与計画で投与可能なものであり得る。

10

【0032】

別の態様では、本発明は、患者の術後疼痛の発症率を低減する、術後疼痛を緩和する、術後疼痛を軽減するおよび／または術後疼痛の発症もしくは進行を遅らせる方法を提供し、前記方法は、有効量の本発明によるNGFアンタゴニスト、例えば、神経成長因子（NGF）と結合して、NGFとp75との結合を大幅に阻害することなくNGFとTrkAとの結合を阻害する、本発明による抗NGF抗体もしくは抗体フラグメント、または神経成長因子（NGF）と結合して、NGFとTrkAとの結合およびNGFとp75との結合をともに阻害する、本発明による少なくとも1つのNGF特異的抗体もしくは抗体フラグメントを投与することを含む。さらに本発明は、前記疼痛適応症の治療または予防、好ましくはヒト治療での使用に適した医薬組成物を提供し、この医薬組成物は、神経成長因子（NGF）と結合して、NGFとp75との結合を大幅に阻害することなくNGFとTrkAとの結合を阻害する、少なくとも1つの本発明によるNGF特異的抗体もしくは抗体フラグメントの有効量を含むか、または神経成長因子（NGF）と結合して、NGFとTrkAとの結合およびNGFとp75との結合をともに阻害する、少なくとも1つの本発明によるNGF特異的抗体もしくは抗体フラグメントを含有する。上記抗体およびフラグメント、例えば一価薬剤は、循環半減期に影響を及ぼすために、例えばPEGその他のポリマーの付加、または検出可能な薬剤もしくは機能性薬剤のような他の部分の付加などにより修飾されていてもよい。上記一価薬剤の例としては、Fab、Fab'、Fv、scFvの各フラグメント、SMIPs（小分子免疫薬剤（small molecule immunopharmaceuticals）、キャメルボディ（camel body）、ナノボディ（nanobody）、IgNAR、MetMabに類似した一価抗体分子またはその1つ以上の組合せが挙げられる。以下で述べるように、上記組成物は、様々な経路および投与計画で投与可能なものであり得る。

20

30

40

【0033】

別の態様では、本発明は、患者の疼痛閾値を上昇させる方法を提供し、この方法は、有効量のNGFアンタゴニスト、例えば、神経成長因子（NGF）と結合して、NGFとp75との結合を大幅に阻害することなくNGFとTrkAとの結合を阻害する、本発明による抗NGF抗体もしくは抗体フラグメント、または神経成長因子（NGF）と結合して、NGFとTrkAとの結合およびNGFとp75との結合をともに阻害する、少なくとも1つの本発明によるNGF特異的抗体もしくは抗体フラグメントを投与することを含む。さらに本発明は、前記疼痛適応症の治療または予防、好ましくはヒト治療での使用に適した医薬組成物を提供し、この医薬組成物は、神経成長因子（NGF）と結合して、NGFとp75との結合を大幅に阻害することなくNGFとTrkAとの結合を阻害する、少

50

なくとも1つの本発明によるNGF特異的抗体もしくは抗体フラグメント、または神経成長因子(NGF)と結合して、NGFとTrkAとの結合およびNGFとp75との結合をともに阻害する、少なくとも1つの本発明によるNGF特異的抗体もしくは抗体フラグメントの有効量を含む。以下で述べるように、上記組成物は、様々な経路および投与計画で、好ましくは皮下に、静脈内に、鼻腔内にまたは経皮的に投与可能なものであり得る。

【0034】

別の態様では、本発明は、患者の外科手術および／または傷害による外傷性創傷からの回復を増強する方法を提供し、この方法は、有効量のNGFアンタゴニスト、例えば、神経成長因子(NGF)と結合して、NGFとp75との結合を大幅に阻害することなくNGFとTrkAとの結合を阻害する、本発明による抗NGF抗体もしくは抗体フラグメント、または神経成長因子(NGF)と結合して、NGFとTrkAとの結合およびNGFとp75との結合をともに阻害する、少なくとも1つの本発明によるNGF特異的抗体もしくは抗体フラグメントを投与することを含む。いくつかの実施形態では、安静時疼痛が抑制、緩和および／または予防され、いくつかの実施形態では、機械的疼痛(運動により生じる疼痛を含む)が抑制、緩和および／または予防され、いくつかの実施形態では、熱性疼痛が抑制、緩和および／または予防される。いくつかの実施形態では、神経成長因子(NGF)と結合して、NGFとp75との結合を大幅に阻害することなくNGFとTrkAとの結合を阻害する、本発明による抗NGF抗体もしくはフラグメント、または神経成長因子(NGF)と結合して、NGFとTrkAとの結合およびNGFとp75との結合をともに阻害する、少なくとも1つの本発明によるNGF特異的抗体もしくは抗体フラグメントを投与することにより、機械的疼痛が抑制、緩和および／または予防される。いくつかの実施形態では、本発明によるNGFアンタゴニスト、例えば、神経成長因子(NGF)と結合して、NGFとp75との結合を大幅に阻害することなくNGFとTrkAとの結合を阻害する、本発明による抗NGF抗体もしくはフラグメント、または神経成長因子(NGF)と結合して、NGFとTrkAとの結合およびNGFとp75との結合をともに阻害する、少なくとも1つの本発明によるNGF特異的抗体もしくは抗体フラグメントを投与することにより、安静時疼痛が抑制、緩和および／または予防される。いくつかの実施形態では、本発明によるNGFアンタゴニスト、例えば、神経成長因子(NGF)と結合して、NGFとp75との結合を大幅に阻害することなくNGFとTrkAとの結合を阻害する本発明による抗NGF抗体もしくはフラグメント、または神経成長因子(NGF)と結合して、NGFとTrkAとの結合およびNGFとp75との結合をともに阻害する、少なくとも1つの本発明によるNGF特異的抗体もしくは抗体フラグメントを投与することにより、熱性疼痛が抑制、緩和および／または予防される。いくつかの実施形態では、異痛症(すなわち、通常は非侵害性の刺激に対する反応の増大(すなわち、侵害感覚の増大))が抑制、緩和および／または予防され、かつ／または痛覚過敏(すなわち、通常は侵害性または不快である刺激に対する反応の増大)が抑制、緩和および／または予防される。さらに別の実施形態では、異痛症および／または痛覚過敏は、本来熱性もしくは機械的(触覚的)なものであるか、または安静時疼痛である。いくつかの実施形態では、疼痛は慢性疼痛である。他の実施形態では、疼痛は、切開、創傷もしくは外傷部位に関連するものである、かつ／または切開、創傷および／もしくは外傷部位に近接するか、その部位に存在するか、その部位の付近に存在するものである。さらに本発明は、前記疼痛適応症の治療または予防、好ましくはヒト治療での使用に適した医薬組成物を提供し、この医薬組成物は、有効量の少なくとも1つの本発明によるNGFアンタゴニスト、例えば、神経成長因子(NGF)と結合して、NGFとp75との結合を大幅に阻害することなくNGFとTrkAとの結合を阻害する、本発明によるNGF特異的抗体もしくは抗体フラグメント、または神経成長因子(NGF)と結合して、NGFとTrkAとの結合およびNGFとp75との結合をともに阻害する、少なくとも1つの本発明によるNGF特異的抗体もしくは抗体フラグメントを含む。以下で述べるように、上記組成物は、様々な経路および投与計画で投与可能なものであり得る。

【0035】

本発明の別の態様は、本発明によるNGFアンタゴニストの能力、例えば、神経成長因子（NGF）、またNGFのフラグメントもしくはTrkAなどの別のポリペプチド、または核酸と結合して、NGFとp75との結合を大幅に阻害することなくNGFとTrkAとの結合を選択的に阻害する、本発明による抗体または抗体フラグメントの能力を用いることにより、あるいは神経成長因子（NGF）と結合して、NGFとTrkAとの結合およびNGFとp75との結合をともに阻害する、少なくとも1つの本発明によるNGF特異的抗体もしくは抗体フラグメントを用いることにより、慢性内臓痛の患者に軽減をもたらすことにある。対象となる本発明によるNGFアンタゴニスト、例えば抗体または抗体フラグメントは、慢性疼痛の場合、内臓機能障害の病態生理にみられる内臓過敏を抑制または遮断することができる。本明細書では、慢性内臓機能障害という語句は、例として、内臓痛の名称でも知られる、神経が原因の内臓感度の障害を包含するものであると理解される。内臓には、消化器、呼吸器、泌尿生殖器、内分泌系のほか、脾臓、心臓および大血管がある。医学的には、慢性内臓痛は、外部からの機械的刺激に反応する際に、疼痛に対する感度の閾値が正常な閾値に比べて低いことを特徴とする。さらに慢性内臓痛は、機能障害に併発する炎症状態がみられないことを特徴とする。さらに具体的に述べれば、慢性内臓痛には以下のような慢性障害がある：他の疾患または障害の兆候であり得る検出可能な器官病変の非存在下でみられる消化機能障害である慢性消化不良；月経に関連した疼痛と特徴とする慢性月経困難症；体重の急激な減少、衰弱、臍臓位置の疼痛、膀胱拡張を伴う黄疸および臍機能不全による消化障害を特徴とし、腹部で再発する痛みを伴う発作により小児期から発症し、成人では臍臓の機能不全の兆候および石灰化を特徴とする常染色体優性遺伝する疾患である遺伝性慢性臍炎を含めた、慢性臍炎；酸性の胃内容物が食道内に戻ることにより、一般的には食後に、時には胃酸を伴って、胸骨後部を灼熱感が上昇することを特徴とする慢性胃食道逆流症；生化学的および組織学的変化が検出されず、腹痛および下痢および／または便秘を特徴とする非炎症性慢性疾患のIBS（過敏性腸症候群）。さらに本発明は、前記疼痛適応症の治療または予防、好ましくはヒト治療での使用に適した医薬組成物を提供し、この医薬組成物は、神経成長因子（NGF）と結合して、NGFとp75との結合を大幅に阻害することなくNGFとTrkAとの結合を阻害する、少なくとも1つの本発明によるNGF特異的抗体もしくは抗体フラグメントの有効量を含むか、または神経成長因子（NGF）と結合して、NGFとTrkAとの結合およびNGFとp75との結合をともに阻害する、少なくとも1つの本発明によるNGF特異的抗体もしくは抗体フラグメントを含有する。以下で述べるように、上記組成物は、様々な経路および投与計画で投与可能なものであり得る。

【0036】

慢性内臓痛、特に胃腸痛は、患者または動物における様々な外部刺激の知覚の異常を特徴とする。この外部刺激の知覚の異常は、これらの外部刺激に対する患者または動物の感度閾値が対照被験者に比べて低下することと定義され得る。正常な状態では痛みとして感じない刺激が痛みとして知覚され、感度閾値の低下に対応する、この生理病理学的状態は、異痛症と呼ばれる。本発明による抗体または抗体フラグメントを慢性内臓痛の対象に投与することにより、この対象の外部刺激に対する感度閾値の低下を除去し、感度閾値を健常対照被験者ものと同程度にまで戻すことができた。対象とする本発明による抗体またはフラグメントは、慢性内臓痛の予防または治療のための薬物の製造に使用することができる。

【0037】

別の実施形態では、本発明は、オピオイド鎮痛剤による疼痛治療を増強する方法を提供し、この方法は、有効量のオピオイド鎮痛剤を有効量の本発明によるNGFアンタゴニスト、例えば、神経成長因子（NGF）と結合して、NGFとp75との結合を大幅に阻害することなくNGFとTrkAとの結合を阻害する、本発明による抗NGF抗体もしくは抗体フラグメントと、または神経成長因子（NGF）と結合して、NGFとTrkAとの結合およびNGFとp75との結合をともに阻害する、少なくとも1つの本発明によるNGF特異的抗体もしくは抗体フラグメントと併用投与することを含む。本明細書で使用さ

れる併用投与は、同時投与および／または異なる時間での投与を含む。また併用投与は、共製剤（すなわち、本発明によるNGF抗体またはフラグメントとオピオイド鎮痛剤が同じ組成物中に存在する（組み合わせられている））としての投与および／または別個の組成物としての投与も包含する。

【0038】

本明細書で使用される「併用投与」は、本発明によるNGFアンタゴニスト、例えば、神経成長因子（NGF）と結合して、NGFとp75との結合を大幅に阻害することなくNGFとTrkAとの結合を阻害する、本発明によるNGF抗体もしくはフラグメント、または神経成長因子（NGF）と結合して、NGFとTrkAとの結合およびNGFとp75との結合をともに阻害する、少なくとも1つの本発明によるNGF特異的抗体もしくは抗体フラグメントと、別の活性作用物質、例えば別の鎮痛剤または生物製剤とが、有効量で患者に投与される、任意の状況を包含するものとする。さらに本発明は、前記疼痛適応症の治療または予防、好ましくはヒト治療での使用に適した医薬組成物を提供し、この医薬組成物は、神経成長因子（NGF）と結合して、NGFとp75との結合を大幅に阻害することなくNGFとTrkAとの結合を阻害する、少なくとも1つの本発明によるNGF特異的抗体もしくは抗体フラグメント、または神経成長因子（NGF）と結合して、NGFとTrkAとの結合およびNGFとp75との結合をともに阻害する、少なくとも1つの本発明によるNGF特異的抗体もしくは抗体フラグメントの有効量を含む。以下で述べるように、上記組成物は、様々な経路および投与計画で投与可能なものであり得る。

【0039】

本発明の別の実施形態では、NGFと結合することができ、NGFとp75との結合を大幅に阻害することなくNGFとTrkAとの結合を阻害する、キメラ抗体またはヒト化抗体およびそのフラグメント（Fabフラグメントを含む）、あるいは神経成長因子（NGF）と結合して、NGFとTrkAとの結合およびNGFとp75との結合をともに阻害し、さらにTF1細胞の増殖を阻害する、少なくとも1つの本発明によるNGF特異的抗体もしくは抗体フラグメントが提供される。

【0040】

本発明の別の実施形態では、NGFと結合することができ、NGFとp75との結合を大幅に阻害することなくNGFとTrkAとの結合を阻害し、かつPC12の神経突起伸長を阻害する、キメラ抗体またはヒト化抗体およびそのフラグメント（Fabフラグメントを含む）が提供される。さらに本発明は、前記疼痛適応症の治療または予防、好ましくはヒト治療での使用に適した医薬組成物を提供し、この医薬組成物は、NGFと結合することができ、NGFとp75との結合を大幅に阻害することなくNGFとTrkAとの結合を阻害する、前記キメラ抗体またはヒト化抗体およびそのフラグメント（Fabフラグメントを含む）、または神経成長因子（NGF）と結合して、NGFとTrkAとの結合およびNGFとp75との結合をともに阻害し、さらにTF1細胞の増殖を阻害する、少なくとも1つの本発明によるNGF特異的抗体もしくは抗体フラグメントの有効量を含む。以下で述べるように、上記組成物は、様々な経路および投与計画で投与可能なものであり得る。

【0041】

本発明の別の実施形態では、上記抗体およびヒト化型抗体は、ウサギ免疫細胞（Bリンパ球）に由来し、またヒト生殖系列配列に対するその相同性（配列同一性）に基づいて選択され得る。上記抗体は、必要な配列修飾が最小限であるか、または配列修飾が不要であるため、ヒト化後の機能特性の保持が容易であり得る。本発明のさらなる実施形態は、例えばウサギ免疫細胞由来のV_H、V_LおよびCDRポリペプチドを含む抗NGF抗体に由来するフラグメント、ならびにそれをコードするポリヌクレオチド、ならびにNGF、および／またはNGF／p75およびNGF／TrkA複合体と結合することができる新規な抗体およびポリペプチド組成物の作出において、上記抗体フラグメントおよびそれをコードするポリヌクレオチドを使用する方法に関する。

【0042】

また本発明は、1つ以上の機能的部分または検出可能な部分とコンジュゲートした、本発明によるNGFアンタゴニスト、例えば、神経成長因子と結合して、NGFとp75との結合を大幅に阻害することなくNGFとTrkAとの結合を阻害する抗NGF抗体およびその結合フラグメントのコンジュゲートも企図する。さらに、上記化合物は、in vivo半減期に影響を及ぼす（増加させるまたは抑制する）部分、または所望の細胞への標的化を促進する部分と結合していてもよい。また本発明は、前記キメラまたはヒト抗NGF抗体、抗NGF/p75複合体抗体または抗NGF/TrkA複合体抗体およびその結合フラグメントを作製する方法も企図する。一実施形態では、結合フラグメントとしては、特に限定されないが、Fab、Fab'、F(ab')₂、Fv、scFvの各フラグメント、SMIPs（小分子免疫薬剤（small molecule immunopharmaceuticals））、キャメルボディ（camel body）、ナノボディ（nanobody）、MetMab様一価抗体フラグメントおよびIgNARが挙げられる。さらに本発明は、前記疼痛適応症の治療または予防、好ましくはヒト治療での使用に適した医薬組成物を提供し、この医薬組成物は、1つ以上の機能的部分または検出可能な部分とコンジュゲートした、神経成長因子と結合して、NGFとp75との結合を大幅に阻害することなくNGFとTrkAとの結合を阻害する抗NGF抗体およびその結合フラグメント、または神経成長因子（NGF）と結合して、NGFとTrkAとの結合およびNGFとp75との結合をともに阻害する、少なくとも1つの本発明によるNGF特異的抗体もしくは抗体フラグメントの前記コンジュゲートの有効量を含む。

【0043】

本発明の実施形態は、NGFまたはその異常発現に関連した疾患および障害、特に疼痛に関連した疾患の診断、評価および治療における、本発明によるNGFアンタゴニスト、例えば、NGFとp75との結合を大幅に阻害することなくNGFとTrkAとの結合を阻害する抗NGF抗体およびその結合フラグメントの使用に関する。また本発明は、NGFまたはその異常発現に関連した疾患および障害の診断、評価および治療における、NGFとp75との結合を大幅に阻害することなくNGFとTrkAとの結合を阻害する抗NGF抗体のフラグメントの使用も企図する。本発明の他の実施形態は、抗NGF抗体またはそのフラグメントおよび前記抗体またはフラグメントをコードする核酸の生成に関するものであり、上記抗体またはフラグメントは、NGFとp75との結合を大幅に阻害することなくNGFとTrkAとの結合を阻害し、上記生成は、組換え宿主細胞、例えば、CHO、NSOもしくはHEK293細胞などの哺乳動物細胞、または酵母細胞（例えば、二倍体ピキア属（Pichia）のような二倍体酵母）その他の酵母菌株での上記核酸の発現によるものである。さらに本発明は、前記方法で使用する薬学的に許容される組成物を提供する。

【0044】

本明細書で詳細に述べるように、本発明によるNGFアンタゴニスト、例えば抗NGF抗体またはフラグメントと他の活性作用物質、例えばオピオイド鎮痛剤を、異なる投与頻度および／または間隔で投与し得ることが理解される。例えば、本発明による抗NGF抗体またはフラグメントを週1回投与し、オピオイド鎮痛剤をこれよりも高い頻度で投与することができる。NGF抗体またはフラグメントとオピオイド鎮痛剤を、同じ投与経路または異なる投与経路を用いて投与してもよく、また投与（1つまたは複数）期間中に様々な投与計画を変更してもよい。疼痛発症前に投与を実施してもよい。

【0045】

別の態様では、本発明は、患者の疼痛の発症率を低減する、疼痛を緩和する、疼痛を軽減するおよび／または疼痛の発症もしくは進行を遅らせる方法を提供し、前記方法は、有効量のオピオイド鎮痛剤を、有効量の本発明によるNGFアンタゴニスト、例えば、神経成長因子（NGF）と結合して、NGFとp75との結合を大幅に阻害することなくNGFとTrkAとの結合を阻害する、本発明によるNGF抗体もしくはフラグメントと、または神経成長因子（NGF）と結合して、NGFとTrkAとの結合およびNGFとp75との結合をともに阻害する、少なくとも1つの本発明によるNGF特異的抗体もしくは

抗体フラグメントと併用投与することを含む。本発明の方法は、オピオイド鎮痛剤の使用が一般に指示される疼痛、例えば、肺炎、腎臓結石、頭痛、月経困難症、筋骨格疼痛（例えば、腰痛）、捻挫、内臓痛、卵巣嚢胞、前立腺炎、膀胱炎、化学外傷もしくは熱傷、または癌（骨に転移した前立腺癌、骨に転移した乳癌、骨に転移した肺癌、膵臓癌など）を含めた任意の病因の任意の疼痛を治療または予防するのに適している。さらに本発明は、前記疼痛適応症の治療または予防、好ましくはヒト治療での使用に適した医薬組成物を提供し、この医薬組成物は、神経成長因子（NGF）と結合して、NGFとp75との結合を大幅に阻害することなくNGFとTrkAとの結合を阻害する、少なくとも1つの本発明によるNGF特異的抗体もしくは抗体フラグメントの有効量を含む。以下で述べるように、上記組成物は、様々な経路および投与計画で投与可能なものであり得る。

10

【0046】

別の態様では、本発明は、疼痛を治療する（または他の実施形態では予防する）方法の特徴とし、この方法は、効果的な疼痛軽減をもたらすために、ある量の本発明によるNGFアンタゴニスト、例えば、本発明による抗NGF抗体もしくはフラグメントを他の活性作用物質、例えば、NSAIDとともに投与することを含む。さらに本発明は、前記疼痛適応症の治療または予防、好ましくはヒト治療での使用に適した医薬組成物を提供し、この医薬組成物は、神経成長因子（NGF）と結合して、NGFとp75との結合を大幅に阻害することなくNGFとTrkAとの結合を阻害する、少なくとも1つの本発明によるNGF特異的抗体もしくは抗体フラグメント、または神経成長因子（NGF）と結合して、NGFとTrkAとの結合およびNGFとp75との結合をともに阻害する、少なくとも1つの本発明によるNGF特異的抗体もしくは抗体フラグメントの有効量を含む。以下で述べるように、上記組成物は、様々な経路および投与計画で投与可能なものであり得る。

20

【0047】

別の態様では、本発明は、NSAIDによる疼痛治療を増強する方法を提供し、この方法は、有効量のNSAIDを、有効量の本発明によるNGFアンタゴニスト、例えば、神経成長因子（NGF）と結合して、NGFとp75との結合を大幅に阻害することなくNGFとTrkAとの結合を阻害する、本発明による抗NGF抗体もしくは抗体フラグメントと、または神経成長因子（NGF）と結合して、NGFとTrkAとの結合およびNGFとp75との結合をともに阻害する、少なくとも1つの本発明によるNGF特異的抗体もしくは抗体フラグメントと、または神経成長因子（NGF）と結合して、NGFとTrkAとの結合およびNGFとp75との結合をともに阻害する、少なくとも1つの本発明によるNGF特異的抗体もしくは抗体フラグメントと併用投与することを含む。本明細書で使用される併用投与は、同時投与および／または異なる時間での投与を含む。また併用投与は、共製剤（すなわち、本発明によるNGF抗体とNSAIDが同じ組成物中に存在する（組み合わせられている））としての投与および／または別個の組成物としての投与も包含する。本明細書で使用する「併用投与」は、NSAIDと抗NGF抗体が有効量で患者に投与される任意の状況を包含するものとする。本明細書で詳細に述べるように、NGF抗体またはフラグメントとNSAIDを異なる投与頻度および／または間隔で投与し得ることが理解される。例えば、本発明によるNGFアンタゴニスト、例えば抗NGF抗体を週1回投与し、NSAIDをこれよりも高い頻度で投与することができる。NGF抗体とNSAIDを同じ投与経路または異なる投与経路を用いて投与してもよく、また投与（1つまたは複数）期間中に様々な投与計画を変更してもよいことが理解される。疼痛発症前に投与を実施してもよい。さらに本発明は、前記疼痛適応症の治療または予防、好ましくはヒト治療での使用に適した医薬組成物を提供し、この医薬組成物は、有効量の少なくとも1つの本発明によるNGFアンタゴニスト、例えば、神経成長因子（NGF）と結合して、NGFとp75との結合を大幅に阻害することなくNGFとTrkAとの結合を阻害する、本発明によるNGF特異的抗体もしくは抗体フラグメント、または神経成長因子（NGF）と結合して、NGFとTrkAとの結合およびNGFとp75との結合をともに阻害する、少なくとも1つの本発明によるNGF特異的抗体もしくは抗体フラグメ

30

40

50

ントを含む。以下で述べるように、上記組成物は、様々な経路および投与計画で投与可能なものであり得る。

【0048】

別の態様では、本発明は、疼痛の発症率を低減する、疼痛を緩和する、疼痛を軽減するおよび／または患者の疼痛の発症もしくは進行を遅らせる方法を提供し、前記方法は、有効量の本発明によるNGFアンタゴニスト、例えば、神経成長因子（NGF）と結合して、NGFとp75との結合を大幅に阻害することなくNGFとTrkAとの結合を阻害する、本発明によるNGF抗体もしくは抗体フラグメントを、または神経成長因子（NGF）と結合して、NGFとTrkAとの結合およびNGFとp75との結合をともに阻害する少なくとも1つの本発明によるNGF特異的抗体もしくは抗体フラグメントを、有効量のNSAIDと併用投与することを含む。本発明の方法は、NSAIDの使用が一般に指示される疼痛を含めた任意の病因の任意の疼痛を治療または予防するのに適している。いくつかの実施形態では、疼痛は術後疼痛である。いくつかの実施形態では、疼痛は熱傷に関連する疼痛である。他の実施形態では、疼痛は関節リウマチに関連する疼痛である。他の実施形態では、疼痛は変形性関節症に関連する疼痛である。

10

【0049】

さらに本発明は、前記疼痛適応症の治療または予防、好ましくはヒト治療での使用に適した医薬組成物を提供し、この医薬組成物は、有効量の少なくとも1つの本発明によるNGFアンタゴニスト、例えば、神経成長因子（NGF）と結合して、NGFとp75との結合を大幅に阻害することなくNGFとTrkAとの結合を阻害する、本発明によるNGF特異的抗体もしくは抗体フラグメント、または神経成長因子（NGF）と結合して、NGFとTrkAとの結合およびNGFとp75との結合をともに阻害する、少なくとも1つの本発明によるNGF特異的抗体もしくは抗体フラグメントを含む。以下で述べるように、上記組成物は、様々な経路および投与計画で投与可能なものであり得る。

20

【0050】

別の態様では、本発明は、本発明によるNGFアンタゴニスト、例えば、神経成長因子（NGF）と結合して、NGFとp75との結合を大幅に阻害することなくNGFとTrkAとの結合を阻害する、本発明による抗NGF抗体もしくは抗体フラグメント、または神経成長因子（NGF）と結合して、NGFとTrkAとの結合およびNGFとp75との結合をともに阻害する、少なくとも1つの本発明によるNGF特異的抗体もしくは抗体フラグメントを投与することにより、骨転移に関連する癌性疼痛（「骨転移疼痛」とも呼ばれる）を含めた骨癌疼痛を予防または治療する方法を特徴とする。いくつかの実施形態では、本発明によるNGFアンタゴニスト、例えば、NGF抗体またはフラグメントをオピオイド鎮痛剤と共投与する。いくつかの実施形態では、本発明によるNGF抗体または抗体フラグメントをNSAIDと共投与する。いくつかの実施形態では、NGFアンタゴニストをオピオイド鎮痛剤およびNSAIDと共投与する。いくつかの実施形態では、NGFアンタゴニストをオピオイド鎮痛剤と共投与しない。いくつかの実施形態では、NGFアンタゴニストをNSAIDと共投与しない。さらに本発明は、前記疼痛適応症の治療または予防、好ましくはヒト治療での使用に適した医薬組成物を提供し、この医薬組成物は、神経成長因子（NGF）と結合して、NGFとp75との結合を大幅に阻害することなくNGFとTrkAとの結合を阻害する、少なくとも1つの本発明によるNGF特異的抗体もしくは抗体フラグメント、神経成長因子（NGF）と結合して、NGFとTrkAとの結合およびNGFとp75との結合をともに阻害する、または少なくとも1つの本発明によるNGF特異的抗体もしくは抗体フラグメントの有効量を含む。以下で述べるように、上記組成物は、様々な経路および投与計画で投与可能なものであり得る。

30

40

【0051】

別の態様では、本発明は、患者の骨転移に関連する癌性疼痛を含めた骨癌疼痛の発症率を低減する、骨転移に関連する癌性疼痛を含めた骨癌疼痛を緩和する、骨転移に関連する癌性疼痛を含めた骨癌疼痛を軽減するおよび／または骨転移に関連する癌性疼痛を含めた骨癌疼痛の発症もしくは進行を遅らせる方法を提供し、前記方法は、有効量の本発明によ

50

るNGFアンタゴニスト、例えば、神経成長因子（NGF）と結合して、NGFとp75との結合を大幅に阻害することなくNGFとTrkAとの結合を阻害する、本発明によるNGF抗体もしくはフラグメント、または神経成長因子（NGF）と結合して、NGFとTrkAとの結合およびNGFとp75との結合をともに阻害する、少なくとも1つの本発明によるNGF特異的抗体もしくは抗体フラグメントを投与することを含む。いくつかの実施形態では、本発明によるNGFアンタゴニスト、例えばNGF抗体またはフラグメントをオピオイド鎮痛剤と共投与する。いくつかの実施形態では、NGF抗体またはフラグメントをNSAIDと共投与する。いくつかの実施形態では、本発明によるNGFアンタゴニスト、例えばNGF抗体またはフラグメントをオピオイド鎮痛剤およびNSAIDと共投与する。いくつかの実施形態では、本発明によるNGFアンタゴニスト、例えばNGF抗体またはフラグメントをオピオイド鎮痛剤と共投与しない。いくつかの実施形態では、本発明によるNGFアンタゴニスト、例えばNGF抗体またはフラグメントをNSAIDと共投与しない。さらに本発明は、前記疼痛適応症の治療または予防、好ましくはヒト治療での使用に適した医薬組成物を提供し、この医薬組成物は、神経成長因子（NGF）と結合して、NGFとp75との結合を大幅に阻害することなくNGFとTrkAとの結合を阻害する、少なくとも1つの本発明によるNGF特異的抗体もしくは抗体フラグメントを含む。以下で述べるように、上記組成物は、様々な経路および投与計画で投与可能なものであり得る。

10

【0052】

また上記NGF抗体およびフラグメントをコードする核酸を含むベクター、ならびに上記核酸を発現し、最も好ましくは本発明のモノクローナル抗体およびフラグメントを細胞培地中に分泌する、細菌、酵母、哺乳動物、昆虫または鳥類などの細胞を含めた細胞も本発明により提供される。本発明の抗体および抗体フラグメントその他のNGFアンタゴニストは、疼痛の治療および管理に使用されることに加えて、NGFアンタゴニスト、例えば、神経成長因子（NGF）と結合して、NGFとp75との結合を大幅に阻害することなくNGFとTrkAとの結合を阻害する、抗体もしくは抗体フラグメントその他の化合物、または神経成長因子（NGF）と結合して、NGFとTrkAとの結合を阻害し、さらにNGFとp75との結合を阻害する抗体を使用する、神経障害性疼痛および炎症性疼痛関連の反応の治療に有用である。

20

【0053】

それに関連して本出願には、神経成長因子（NGF）と結合して、NGFとTrkAとの結合、さらにはNGFとp75との結合も阻害するモノクローナル抗体およびフラグメント、および／またはNGFとTrkAとの結合を阻害し、またNGFとp75との結合も阻害するNGF特異的抗体もしくは抗体フラグメントが記載されており、上記抗体およびフラグメントは、疼痛性障害および炎症などの他の障害の治療または予防にも有用である。上記抗体およびフラグメント、例えば一価または二価の薬剤は、循環半減期に影響を及ぼすために、例えばPEGその他のポリマーの付加、または検出可能な薬剤もしくは機能性薬剤のような他の部分の付加などにより修飾されていてもよい。上記一価薬剤の例としては、Fab、Fab'、Fv、scFvの各フラグメント、SMIPs（小分子免疫薬剤（small molecule immunopharmaceuticals））、キャメルボディ（camel body）、ナノボディ（nanobody）、IgNAR、MetMabに類似した一価抗体分子またはその1つ以上の組合せが挙げられる。

30

40

【図面の簡単な説明】

【0054】

【図1】完全長抗体Ab1に対応するポリヌクレオチドとポリペプチドの配列を示す図である。

【図2】完全長抗体Ab2に対応するポリヌクレオチドとポリペプチドの配列を示す図である。

【図3】完全長抗体Ab3に対応するポリヌクレオチドとポリペプチドの配列を示す図である。

50

【図 4】完全長抗体 A b 4 に対応するポリヌクレオチドとポリペプチドの配列を示す図である。

【図 5】完全長抗体 A b 5 に対応するポリヌクレオチドとポリペプチドの配列を示す図である。

【図 6】完全長抗体 A b 6 に対応するポリヌクレオチドとポリペプチドの配列を示す図である。

【図 7】完全長抗体 A b 7 に対応するポリヌクレオチドとポリペプチドの配列を示す図である。

【図 8】完全長抗体 A b 8 に対応するポリヌクレオチドとポリペプチドの配列を示す図である。

10

【図 9】完全長抗体 A b 9 に対応するポリヌクレオチドとポリペプチドの配列を示す図である。

【図 10】完全長抗体 A b 10 に対応するポリヌクレオチドとポリペプチドの配列を示す図である。

【図 11】完全長抗体 A b 11 に対応するポリヌクレオチドとポリペプチドの配列を示す図である。

【図 12】完全長抗体 A b 12 に対応するポリヌクレオチドとポリペプチドの配列を示す図である。

【図 13】完全長抗体 A b 13 に対応するポリヌクレオチドとポリペプチドの配列を示す図である。

20

【図 14】完全長抗体 A b 14 に対応するポリヌクレオチドとポリペプチドの配列を示す図である。

【図 15】完全長抗体 A b 15 に対応するポリヌクレオチドとポリペプチドの配列を示す図である。

【図 16】完全長抗体 A b 16 に対応するポリヌクレオチドとポリペプチドの配列を示す図である。

【図 17】完全長抗体 A b 17 に対応するポリヌクレオチドとポリペプチドの配列を示す図である。

【図 18】完全長抗体 A b 18 に対応するポリヌクレオチドとポリペプチドの配列を示す図である。

30

【図 19】完全長抗体 A b 19 に対応するポリヌクレオチドとポリペプチドの配列を示す図である。

【図 20】完全長抗体 A b 20 に対応するポリヌクレオチドとポリペプチドの配列を示す図である。

【図 21】ピキア・パストリス (*Pichia pastoris*) での発現により生成された完全長抗体 A b 21 に対応するポリヌクレオチドとポリペプチドの配列を示す図である。

【図 22】F a b 1 の重鎖と軽鎖のポリペプチド配列を示す図である。

【図 23】F a b 2 の重鎖と軽鎖のポリペプチド配列を示す図である。

【図 24】以下に記載されているプロトコルに従って得られた、抗体 A b 1 および A b 2 の N G F との E L I S A 結合に関するデータを示す図である。

40

【図 25】以下に記載されているプロトコルに従って得られた、抗体 A b 3 の N G F との E L I S A 結合に関するデータを示す図である。

【図 26】以下に記載されているプロトコルに従って得られた、抗体 A b 4 の N G F との E L I S A 結合に関するデータを示す図である。

【図 27】以下に記載されているプロトコルに従って得られた、抗体 A b 5 および A b 6 の N G F との E L I S A 結合に関するデータを示す図である。

【図 28】以下に記載されているプロトコルに従って得られた、F a b 1 の N G F との E L I S A 結合に関するデータを示す図である。

【図 29】以下に記載されているプロトコルに従って得られた、F a b 2 の N G F との E

50

L I S A 結合に関するデータを示す図である。

【図 3 0】以下に記載されているプロトコルに従って得られた、抗体 A b 7 および A b 8 の N G F との E L I S A 結合に関するデータを示す図である。

【図 3 1】以下に記載されているプロトコルに従って得られた、抗体 A b 9 および A b 1 0 の N G F との E L I S A 結合に関するデータを示す図である。

【図 3 2】以下に記載されているプロトコルに従って得られた、抗体 A b 1 1 の N G F との E L I S A 結合に関するデータを示す図である。

【図 3 3】以下に記載されているプロトコルに従って得られた、抗体 A b 1 2 の N G F との E L I S A 結合に関するデータを示す図である。

【図 3 4】以下に記載されているプロトコルに従って得られた、抗体 A b 1 3 の N G F との E L I S A 結合に関するデータを示す図である。

10

【図 3 5】以下に記載されているプロトコルに従って得られた、抗体 A b 1 4 の N G F との E L I S A 結合に関するデータを示す図である。

【図 3 6】以下に記載されているプロトコルに従って得られた、抗体 A b 1 5 の N G F との E L I S A 結合に関するデータを示す図である。

【図 3 7】以下に記載されているプロトコルに従って得られた、抗体 A b 1 6 の N G F との E L I S A 結合に関するデータを示す図である。

【図 3 8】以下に記載されているプロトコルに従って得られた、抗体 A b 1 7 および A b 1 8 の N G F との E L I S A 結合に関するデータを示す図である。

【図 3 9】以下に記載されているプロトコルに従って得られた、抗体 A b 1 9 の N G F との E L I S A 結合に関するデータを示す図である。

20

【図 4 0】以下に記載されているプロトコルに従って得られた、抗体 A b 2 0 の N G F との E L I S A 結合に関するデータを示す図である。

【図 4 1】実施例 1 に従って得られた、抗体 A b 1 および A b 2 の T F 1 細胞増殖に関するデータを示す図である。

【図 4 2】実施例 1 に従って得られた、抗体 A b 3 および A b 4 の T F 1 細胞増殖に関するデータを示す図である。

【図 4 3】実施例 1 に従って得られた、抗体 A b 5 および A b 6 の T F 1 細胞増殖に関するデータを示す図である。

【図 4 4】実施例 1 に従って得られた、F a b 1 および F a b 2 抗体フラグメントの T F 1 細胞増殖に関するデータを示す図である。

30

【図 4 5】実施例 1 に従って得られた、抗体 A b 7 および A b 8 の T F 1 細胞増殖に関するデータを示す図である。

【図 4 6】実施例 1 に従って得られた、抗体 A b 9 および A b 1 0 の T F 1 細胞増殖に関するデータを示す図である。

【図 4 7】実施例 1 に従って得られた、抗体 A b 1 1 および A b 1 2 の T F 1 細胞増殖に関するデータを示す図である。

【図 4 8】実施例 1 に従って得られた、抗体 A b 1 3 および A b 1 4 の T F 1 細胞増殖に関するデータを示す図である。

【図 4 9】実施例 1 に従って得られた、抗体 A b 1 5 の T F 1 細胞増殖に関するデータを示す図である。

40

【図 5 0】実施例 1 に従って得られた、抗体 A b 1 6 の T F 1 細胞増殖に関するデータを示す図である。

【図 5 1】実施例 1 に従って得られた、抗体 A b 1 7 および A b 1 8 の T F 1 細胞増殖に関するデータを示す図である。

【図 5 2】実施例 1 に従って得られた、抗体 A b 1 9 および A b 2 0 の T F 1 細胞増殖に関するデータを示す図である。

【図 5 3】実施例 5 に従って得られた、N G F - p 7 5 相互作用の阻害に関する抗体 A b 3 および A b 4 のデータを示す図である。抗体 A b 3 および A b 4 は N G F と p 7 5 の相互作用を阻害する能力を示さない。

50

【図54】実施例5に従って得られた、NGF-p75相互作用の阻害に関する抗体Ab15およびAb16のデータを示す図である。抗体Ab15およびAb16はNGFとp75の相互作用を阻害する能力を示さない。

【図55】実施例5に従って得られた、NGF-p75相互作用の阻害に関する抗体Ab5のデータを示す図である。抗体Ab5はNGFとp75の相互作用を阻害する能力を示す。

【図56】実施例6に従って得られた、濃度を漸増させた抗体Ab1の存在下でのPC-12神経突起伸長の阻害を示す図である。

【図57】実施例6に従って得られた、濃度を漸増させた抗体Ab2の存在下でのPC-12神経突起伸長の阻害を示す図である。

【図58】実施例6に従って得られた、濃度を漸増させた抗体Ab3の存在下でのPC-12神経突起伸長の阻害を示す図である。またこの結果は、同じ濃度の抗体によるPC-12神経突起伸長の阻害が、異なるNGF結合選択性を示す抗NGF抗体（すなわち、NGFとTrkAおよびp75両方との相互作用を阻害する抗NGF抗体）でみられるものよりも少ないことも示している。

【図59】実施例6に従って得られた、濃度を漸増させた抗体Ab5の存在下でのPC-12神経突起伸長の阻害を示す図である。

【図60】実施例6に従って得られた、濃度を漸増させた抗体Ab6の存在下でのPC-12神経突起伸長の阻害を示す図である。

【図61】実施例6に従って得られた、濃度を漸増させた抗体Ab7の存在下でのPC-12神経突起伸長の阻害を示す図である。

【図62】実施例6に従って得られた、濃度を漸増させた抗体Ab8の存在下でのPC-12神経突起伸長の阻害を示す図である。

【図63】実施例6に従って得られた、濃度を漸増させた抗体Ab9の存在下でのPC-12神経突起伸長の阻害を示す図である。

【図64】実施例6に従って得られた、濃度を漸増させた抗体Ab10の存在下でのPC-12神経突起伸長の阻害を示す図である。

【図65】実施例6に従って得られた、濃度を漸増させた抗体Ab11の存在下でのPC-12神経突起伸長の阻害を示す図である。

【図66】実施例6に従って得られた、濃度を漸増させた抗体Ab13の存在下でのPC-12神経突起伸長の阻害を示す図である。

【図67】実施例6に従って得られた、濃度を漸増させた抗体Ab17の存在下でのPC-12神経突起伸長の阻害を示す図である。

【図68】実施例6に従って得られた、濃度を漸増させた抗体Ab18の存在下でのPC-12神経突起伸長の阻害を示す図である。

【図69】実施例6に従って得られた、濃度を漸増させた抗体Ab19の存在下でのPC-12神経突起伸長の阻害を示す図である。

【図70】実施例7に従って抗体Ab2、Ab6およびAb8の投与後に実施した歩行分析による評価で、疼痛が対照での結果に比べて統計的に有意に減少したことを示す図である。

【図71】実施例7に従って抗体Ab6およびFab1の投与後に実施した歩行分析による評価で、疼痛が対照での結果に比べて統計的に有意に減少したことを示す図である。

【図72】実施例7に従って抗体Ab3の投与後に実施した歩行分析による評価で、疼痛が対照での結果に比べて統計的に有意に減少したことを示す図である。

【図73】実施例7に従って抗体Ab6および抗体Ab21の投与後に実施した歩行分析による評価で、疼痛が対照での結果に比べて統計的に有意に減少したことを示す図である。

【図74】実施例8に従って抗体Ab2、Ab6およびAb8をそれぞれ投与した後、炎症が対照での炎症の結果に比べて増加したことを示す図である。

【図75】Fab1抗体フラグメントの投与後、対照での炎症の結果に比べて炎症の有意

10

20

30

40

50

な増加がみられなかったことを示す図である。これに対し、実施例 8 に従って抗体 A b 6 を投与したところ、炎症が対照での炎症の結果に比べて増加した。

【図 7 6】実施例 8 に従って抗体 A b 3 を投与した後、炎症が対照での炎症の結果に比べて増加したことを示す図である。

【図 7 7】同様に、実施例 8 に従って抗体 A b 6 および抗体 A b 2 1 を投与した後、炎症が対照での炎症の結果に比べて増加したことを示す図である。

【図 7 8】実施例 6 に従って得られた、濃度を漸増させた抗体 A b 1 6 の存在下での P C - 1 2 神経突起伸長の阻害を示す図である。またこの結果は、同じ濃度の抗体による P C - 1 2 神経突起伸長の阻害が、異なる N G F 結合選択性を示す抗 N G F 抗体（すなわち、N G F と T r k A および p 7 5 両方との相互作用を阻害する抗 N G F 抗体）でみられるものよりも少ないことも示している。

10

【図 7 9】実施例 6 に従って得られた、濃度を漸増させた抗体 A b 1 5 の存在下での P C - 1 2 神経突起伸長の阻害を示す図である。またこの結果は、同じ濃度の抗体による P C - 1 2 神経突起伸長の阻害が、異なる N G F 結合選択性を示す抗 N G F 抗体（すなわち、N G F と T r k A および p 7 5 両方との相互作用を阻害する抗 N G F 抗体）でみられるものよりも少ないことも示している。

【発明を実施するための形態】

【0055】

（好適な実施形態の詳細な説明）

定義

20

本発明は、記載されている特定の方法論、プロトコル、動物の種や属および試薬に限定されず、変化し得るものであることが理解されるべきである。また本明細書で使用される用語は、単に特定の実施形態を説明するためのものであって、添付の特許請求の範囲によってのみ限定される本発明の範囲を限定することを意図するものではないということも理解されるべきである。本明細書で使用される単数形「a」、「and」および「the」は、文脈的にそうでないこと明らかでない限り、複数形の指示対象を包含するものとする。したがって、例えば、「細胞（a cell）」を指す場合、それは複数の上記細胞を包含する、また「タンパク質（the protein）」を指す場合、それは1つ以上のタンパク質および当業者に公知のその同等物を包含するなどである。本明細書で使用される技術用語および科学用語は、そうでないこと明らかでない限り、本発明が属する分野の当業者により一般に理解されているものと同義である。

30

【0056】

神経成長因子（N G F）：本明細書で使用される N G F（ベータ-N G F、H S A N 5 および N G F B と呼ばれる）は、R & D Systems 社（M i n n e a p o l i s、M N）から入手可能な次のような成熟アミノ酸配列ヒト（H o m o s a p i e n s）ベータ-神経成長因子（ β -N G F）：

S S S H P I F H R G E F S V C D S V S V W V G D K T T A T D I K G K E V M V L G
E V N I N N S V F K Q Y F F E T K C R D P N P V D S G C R G I D S K H W N S Y C
T T T H T F V K A L T M D G K Q A A W R F I R I D T A C V C V L S R K A V R R A
（配列番号 4 1 1）だけでなく、任意のプロ型、成熟型、可溶型および／または膜結合型
の上記 N G F アミノ酸配列、ならびに上記配列の突然変異体（ムテイン）、スプライス変
異体、アイソフォーム、オルソログ、ホモログおよび各種変異体も包含する。

40

【0057】

「神経増殖因子アンタゴニスト」とは、N G F により誘発される少なくとも1つの生物活性、好ましくは N G F と T r k A および／または p 7 5 との相互作用を含む活性に拮抗する、またはこれを阻害する分子のことである。このようなアンタゴニストとしては、T r k A、p 7 5 もしくは N G F のフラグメントのようなポリペプチド、N G F、T r k A もしくは p 7 5 と結合する核酸または抗体が挙げられる。例示される実施形態では、N G F アンタゴニストは、神経成長因子（N G F）と結合して、N G F と T r k A との結合阻害する、かつ／または N G F と p 7 5 との結合を阻害する、少なくとも1つの N G F 特異

50

的抗体または抗体フラグメントである。

【0058】

本明細書の「組換え宿主」または「宿主細胞」は一般に、本発明によるNGFアンタゴニスト、例えば、本発明によるNGF抗体、NGF抗体フラグメントその他のNGFアンタゴニストを産生するように遺伝子操作された細胞または非ヒト生物体を指す。このような宿主および宿主細胞としては、哺乳動物細胞、細菌、酵母、昆虫細胞、植物細胞およびトランスジェニックのげっ歯類、植物およびウシのような植物または動物が挙げられる。通常、抗体または抗体フラグメントは哺乳動物、細菌および酵母細胞で発現される。好適な実施形態では、対象となる抗体または抗体フラグメントを、抗体発現用の二倍体ピキア属 (*Pichia*) 酵母の培養物を利用した、特許により保護されている分泌発現系で発現させる。この発現系は、2011年4月19日に発行された、Creggの米国特許第7,927,863号に開示されており、上記明細書の内容は参照により本明細書に組み込まれる。例示される実施形態では、NGFアンタゴニスト、例えば抗ヒトNGF抗体および抗体フラグメントは、酵母、好ましくは接合型酵母である。

10

【0059】

接合型酵母種：本発明では、この用語は、培養による増殖が可能な任意の二倍体または四倍体酵母を広く包含するものとする。このような酵母の種は、一倍体、二倍体その他の倍数体の形態で存在し得る。所与の倍数性の細胞は、適当な条件下では、その形態で無限の世代数にわたって増殖し得る。また二倍体細胞が孢子を形成して一倍体細胞を形成することもある。接合が連続すれば、二倍体株がさらに接合または融合することにより四倍体株が生じることもある。本発明は、一倍体酵母だけでなく、例えば接合またはスフェロプラスト融合により生じた、二倍体その他の倍数体の酵母細胞も使用することを企図する。このような酵母にはサッカロミセス科 (*Saccharomycetaceae*) の仲間があり、この科にはアルキシオジマ属 (*Arxiozyma*)、アスコボトリオジマ属 (*Ascobotryozyma*)、シテロミセス属 (*Citeromyces*)、デバリオミセス属 (*Debaryomyces*)、デッケラ属 (*Dekkera*)、エレモテシウム属 (*Eremothecium*)、イサトチェンキア属 (*Issatchenkia*)、カザクスタニア属 (*Kazachstania*)、クリベロミセス属 (*Kluyveromyces*)、コダマエ属 (*Kodamaea*)、ロデロミセス属 (*Lodderomyces*)、パキソレン属 (*Pachysolen*)、ピキア属 (*Pichia*)、サッカロミセス属 (*Saccharomyces*)、サツルニスボラ属 (*Saturnispora*)、テトラピシスポラ属 (*Tetrapisispora*)、トルラスボラ属 (*Torulaspora*)、ウィリオプシス属 (*Williopsis*) およびチゴサッカロミセス属 (*Zygosaccharomyces*) が含まれる。本発明において潜在的に有用な他の種類の酵母としては、ヤロウィア属 (*Yarrowia*)、ロドスポリジウム属 (*Rhodospiridium*)、カンジダ属 (*Candida*)、ハンゼヌラ属 (*Hansenula*)、フィロバシウム属 (*Filobasium*)、スポリジオボルス属 (*Sporidiobolus*)、ブレラ属 (*Bullera*)、ロイコスポリジウム属 (*Leucosporidium*) およびフィロバシデラ属 (*Filobasidella*) が挙げられる。

20

30

40

【0060】

本発明の好適な実施形態では、接合型酵母はピキア属 (*Pichia*) の仲間である。本発明のさらに好適な実施形態では、ピキア属 (*Pichia*) の接合型酵母は、ピキア・パストリス (*Pichia pastoris*) 種、ピキア・メタノリカ (*Pichia methanolica*) 種およびハンゼヌラ・ポリモルファ (*Hansenula polymorpha*) (ピキア・アングスタ (*Pichia angusta*)) 種のうちの1つである。本発明の特に好適な実施形態では、ピキア属 (*Pichia*) の接合型酵母はピキア・パストリス (*Pichia pastoris*) 種である。

【0061】

選択マーカー：選択マーカーとは、例えば形質転換事象を介して遺伝子または遺伝子フ

50

ラグメントを受け取った細胞に増殖表現型（物理的成長特性）を付与する、その遺伝子または遺伝子フラグメントのことである。上記のような細胞は選択マーカーにより、選択増殖培地中、選択マーカー遺伝子を受け取らなかった細胞が増殖できない条件下で、生存し増殖することができる。一般に選択マーカー遺伝子はいくつかの種類に分類され、ポジティブ選択マーカー遺伝子、例えば、抗生物質その他の薬剤に対する耐性、温度に対する耐性（2種類のts変異体を交配するか、または1種類のts変異体を形質転換した場合）をそれぞれ細胞に付与する遺伝子など、ネガティブ選択マーカー遺伝子、例えば、その生合成遺伝子をもたないあらゆる細胞が必要とする特定の栄養素を含まない培地で増殖する能力を細胞に付与する生合成遺伝子、または野生型遺伝子をもたない細胞により細胞を増殖不能にする、突然変異を誘発した生合成遺伝子などの種類がある。適当なマーカーとしては、特に限定されないが、ZEO、G418、LYS3、MET1、MET3a、ADE1、ADE3、URA3などが挙げられる。

10

【0062】

発現ベクター：このDNAベクターは、標的宿主細胞内で外来タンパク質を発現させる操作を容易にするエレメントを含んでいる。多くの場合、最初に細菌宿主、例えば大腸菌（*E. coli*）において形質転換のための配列操作およびDNA作製を行い、またベクターは通常、細菌の複製起点および適当な細菌選択マーカーを含めた、上記操作を容易にする配列を含んでいる。選択マーカーは、選択培地で増殖させる形質転換された宿主細胞の生存または増殖に必要なタンパク質をコードする。選択遺伝子を含むベクターで形質転換されなかった宿主細胞は、培地では生存できない。典型的な選択遺伝子は、a) 抗生物質その他の毒素に対する耐性を付与するタンパク質、(b) 栄養要求性の欠損を補完するタンパク質、または(c) 複合培地から得られない重要な栄養素を補充するタンパク質をコードするものである。酵母の形質転換のためのベクターおよび方法の例は、例えば、Burke, D., Dawson, D., & Stearns, T. (2000). *Methods in yeast genetics: a Cold Spring Harbor Laboratory course manual*. Plainview, N. Y.: Cold Spring Harbor Laboratory Pressに記載されている。

20

【0063】

本発明の方法で使用する発現ベクターは、形質転換された宿主細胞または宿主菌株を特定するための選択用の栄養要求性マーカーまたは薬剤マーカーを含めた、宿主細胞に特異的な配列をさらに含む。さらに、薬剤マーカーを用いて、宿主細胞またはトランスジェニック動物内のベクターのコピー数を増幅させてもよい。

30

【0064】

目的とするポリペプチドコード配列は、宿主細胞またはトランスジェニック動物内でのポリペプチドの発現をもたらす転写制御配列および翻訳制御配列と作動可能に連結されている。このようなベクター成分には、特に限定されないが、エンハンサーエレメント、プロモーターおよび転写終止配列のうちの1つ以上が含まれる。ポリペプチド分泌のための配列、例えばシグナル配列なども含まれ得る。発現ベクターが宿主細胞ゲノム内に組み込まれることが多いため、宿主細胞の複製起点の有無は任意選択である。本発明の一実施形態では、目的とするポリペプチドは、宿主細胞、例えば酵母二倍体細胞からのポリペプチドの最適化された分泌が生じる配列と作動可能に連結されているか、または融合している。

40

【0065】

核酸が別の核酸配列と機能的な関係に置かれているとき、それは「作動可能に連結されている」ことになる。例えば、シグナル配列のDNAがポリペプチドの分泌に関与するプレタンパク質として発現される場合、それはポリペプチドのDNAと作動可能に連結されていることになり、またプロモーターまたはエンハンサーがコード配列の転写に影響を及ぼす場合、それはコード配列と作動可能に連結されていることになる。一般に「作動可能に連結されている」とは、連結されているDNA配列が隣接している、また分泌リーダー

50

の場合はそれらが連結し、かつリーディングフレーム内にあるという意味である。しかし、エンハンサーは隣接している必要はない。連結は、好都合な制限部位でのライゲーションによって、あるいは当業者に公知のPCR／組換え法によって行われる（Gateway（登録商標）Technology；Invitrogen、Carlsbad California）。このような部位が存在しない場合、常法に従って、合成されたオリゴヌクレオチドアダプターまたはリンカーを使用する。

【0066】

プロモーターとは構造遺伝子の開始子ドンの上流（5'）（一般的には約100～1000bp以内）に位置する翻訳されない配列のことであり、それが作動可能に連結されている特定の核酸配列の転写および翻訳を制御するものである。このようなプロモーターはいくつかのクラス、すなわち、誘導性プロモーター、構成的プロモーターおよび抑制プロモーター（リプレッサーの不在に応答して転写レベルを増加させる）に分類される。誘導性プロモーターは、培養条件、例えば栄養素の有無の変化、または温度の変化に応答して、その制御下でDNAからの高レベルの転写を開始させ得る。

【0067】

またプロモーターフラグメントは、相同組換えの部位および酵母ゲノム内の同じ部位への発現ベクターの組み込みの部位としても働き得るが、別の方法では、相同組換えの部位として選択マーカーを用いる。ピキア属（*Pichia*）の形質転換がCreggら（1985）Mol. Cell. Biol. 5：3376－3385に記載されている。

【0068】

ピキア属（*Pichia*）由来の適当なプロモーターの例としては、AOX1およびプロモーター（Creggら（1989）Mol. Cell. Biol. 9：1316－1323）；ICL1プロモーター（Menendezら（2003）Yeast 20（13）：1097－108）；グリセルアルデヒド－3－リン酸デヒドロゲナーゼプロモーター（GAP）（Waterhamら（1997）Gene 186（1）：37－44）；ならびにFLD1プロモーター（Shenら（1998）Gene 216（1）：93－102）が挙げられる。GAPプロモーターは強力な構成的プロモーターであり、AOXプロモーターおよびFLD1プロモーターは誘導性である。

【0069】

他の酵母プロモーターとしては、ADH1、アルコールデヒドロゲナーゼII、GAL4、PHO3、PHO5、Pykの各プロモーターおよびそれに由来するキメラプロモーターが挙げられる。さらに本発明では、酵母以外のプロモーター、例えば哺乳動物、昆虫、植物、爬虫類、植物、両生類、ウイルスおよび鳥類などのプロモーターを使用してもよい。最も一般的には、プロモーターは、哺乳動物プロモーター（発現遺伝子に内在することもある）を含むか、または酵母系での効率的な転写をもたらす酵母プロモーターもしくはウイルスプロモーターを含む。

【0070】

目的とするポリペプチドは、組換えにより直接作製するだけでなく、異種ポリペプチド、例えば、成熟タンパク質またポリペプチドのN-末端に特異的切断部位を有するシグナル配列その他のポリペプチドとの融合ポリペプチドとして作製してもよい。一般にシグナル配列は、ベクターの構成要素であっても、ベクター内に挿入されるポリペプチドコード配列の一部分であってもよい。選択される異種シグナル配列は、宿主細胞内で利用される標準的な経路の1つで認識されプロセッシングを受けるものであることが好ましい。サッカロミセス・セレビシエ（*S. cerevisiae*）α因子プレプロシグナルは、ピキア・パストリス（*P. pastoris*）からの各種組換えタンパク質の分泌に有効であることが明らかにされている。他の酵母シグナル配列としては、α接合因子シグナル配列、インベルターゼシグナル配列および他の分泌型酵母ポリペプチド由来のシグナル配列が挙げられる。さらに、選択した発現系での分泌を増強するように上記シグナルペプチド配列を操作してもよい。このほか、目的とする分泌シグナルとしては哺乳動物シグナル配列が挙げられ、その配列は、分泌されるタンパク質に対して異種性のものであっても、分泌さ

れるタンパク質に天然のものであってもよい。シグナル配列はプレペプチド配列を含み、場合によりプロペプチド配列を含み得る。このようなシグナル配列の多くが当該技術分野で公知であり、免疫グロブリン鎖にみられるシグナル配列、例えば、K 28 プレプロ毒素配列、PHA-E、FACE、ヒトMCP-1、ヒト血清アルブミンシグナル配列、ヒトIg重鎖、ヒトIg軽鎖などがこれに含まれる。例えば、Hashimotoら, Protein Eng 11 (2) 75 (1998) および Kobayashiら, Therapeutic Apheresis 2 (4) 257 (1998) を参照されたい。

【0071】

ベクター内に転写活性化因子配列を挿入することにより転写を増加させてもよい。転写活性化因子は、通常は約10～300bpのDNAのシス作用エレメントであり、プロモーターに作用してDNAの転写を増加させる。転写エンハンサーは方向および位置に比較的依存せず、イントロンおよびコード配列自体の中の転写単位の5'および3'にみられる。エンハンサーはコード配列の5'または3'の位置でベクター内に挿入されていてもよいが、プロモーターから5'の部位に位置することが好ましい。

【0072】

また真核宿主細胞で使用する発現ベクターは、転写の終了およびmRNAの安定化に必要な配列を含んでいてもよい。このような配列は一般に、真核もしくはウイルスDNAまたはcDNAの非翻訳領域の翻訳終止コドンの3'から入手可能である。この領域は、mRNAの翻訳されない部分にポリアデニル化フラグメントとして転写されるヌクレオチドセグメントを含んでいる。

【0073】

上に挙げた構成要素を1つ以上含む適当なベクターの構築では、標準的なライゲーション技術またはPCR／組換え法を用いる。単離されたプラスミドまたはDNAフラグメントを切断し、目的に合わせて組み立て、所望の形態に再び連結するか、または組換え法を用いて、必要なプラスミドを作製する。構築されたプラスミド内での正しい配列を確認する解析を行うために、ライゲーション混合物を用いて宿主細胞を形質転換し、必要に応じて抗生物質耐性（例えば、アンピシリンまたはZeoicin）により、形質転換が成功した形質転換細胞を選択する。形質転換細胞由来のプラスミドを調製し、制限酵素的消化による解析および／または配列決定を行う。

【0074】

フラグメントの制限酵素による切断およびライゲーションとは別の方法として、att部位と組換え酵素に基づく組換え法を用いて、DNA配列をベクター内に挿入してもよい。このような方法は、例えばLandy (1989), Ann. Rev. Biochem. 58:913-949により記載されており、当業者に公知である。この方法では、ラムダおよび大腸菌(E. coli)によりコードされる組換えタンパク質の混合物により仲介される、分子間でのDNA組換えを利用する。相互作用するDNA分子の特定の付着(att)部位の間で組換えが起こる。att部位に関する記載は、WeisbergおよびLandy (1983), Site-Specific Recombination in Phage Lambda, in Lambda II, Weisberg編 (Cold Spring Harbor, NY: Cold Spring Harbor Press), pp. 211-250を参照されたい。組換え後にatt部位が、各親ベクターから与えられた配列で構成されるハイブリッド配列になるように、組換え部位に隣接するDNAセグメントを入れ替える。組換えは任意のトポロジーのDNA間で生じ得る。

【0075】

目的とする配列を適当なベクター内に連結する、特異的プライマーを使用してatt B部位を含むPCR産物を生成する、att部位を含む適当なベクター内にクローン化されたcDNAライブラリーを作製することなどにより、目的とする配列内にatt部位を導入してもよい。

【0076】

本明細書で使用されるフォールディングは、ポリペプチドおよびタンパク質の三次元構造を指し、アミノ酸残基間の相互作用がその構造の安定化に働く。構造の決定には非共有結合による相互作用が重要であるが、目的とするタンパク質は通常、2個のシステイン残基により形成される、分子内および／または分子間の共有結合によるジスルフィド結合を有する。天然のタンパク質およびポリペプチドまたその誘導体および変異体では、適切なフォールディングは通常、最適な生物活性を生じる配置になっており、活性、例えばリガンド結合、酵素活性などをアッセイすることにより好都合にモニターすることができる。

【0077】

場合により、例えば、所望の生成物が合成によるものである場合には、生物活性に基づくアッセイがあまり意味のないものとなる。このような分子の適切なフォールディングは、物理的特性、エネルギー的考察、モデル実験などに基づいて決定することができる。

【0078】

フォールディングおよびジスルフィド結合形成を促進する酵素、すなわちフォールダーゼ、シャペロンなどを1つ以上コードする配列の導入により、発現宿主をさらに改変してもよい。このような配列は、当該技術分野で公知のように、ベクター、マーカーなどを用いて、酵母宿主細胞内で構成的に発現させても、誘導により発現させてもよい。好ましくは、所望の発現パターンに十分な転写調節エレメントを含む配列を、標的化法により宿主細胞ゲノム内に安定に組み込む。

【0079】

例えば、真核PDIは、タンパク質システインの酸化およびジスルフィド結合の異性化の有効な触媒であるばかりでなく、シャペロン活性も示す。PDIの同時発現により、複数のジスルフィド結合を有する活性なタンパク質の産生が促進され得る。このほか、BIP（免疫グロブリン重鎖結合タンパク質）やシクロフィリンなどの発現も対象となる。本発明の一実施形態では、各一倍体の親菌株は異なるフォールディング酵素を発現し、例えば、例えば一方の菌株がBIPを発現し、他方の菌株がPDIまたは両者の組合せを発現する。

【0080】

「所望のタンパク質」または「所望の抗体」という用語は互換的に使用され、一般には標的、すなわちNGFに特異的な親抗体、あるいは本明細書に記載のキメラもしくはヒト化抗体またはそれに由来する結合部分を指す。「抗体」という用語は、エピトープに適合しこれを認識する特異的な形状を有するポリペプチド鎖を含有する任意の分子構造を包含し、この場合、1つ以上の非共有結合による相互作用が、この分子構造とエピトープとの間の複合体を安定化させる。原型となる抗体分子は免疫グロブリンであり、あらゆる入手源、例えば、ヒト、げっ歯類、ウサギ、ウシ、ヒツジ、ブタ、イヌその他の哺乳動物、ニワトリその他の鳥類などに由来するIgG、IgM、IgA、IgE、IgDなどのあらゆる種類の免疫グロブリンは「抗体」と見なされる。本発明による出発物質として有用な抗体作製の好適な入手源はウサギである。数多くの抗体コード配列が記載されており、また当該技術分野で公知の方法により作製してもよい。その例としては、キメラ抗体、ヒト抗体および他の非ヒト哺乳動物抗体、ヒト化抗体、一本鎖抗体（scFvなど）、キャメルボディ（camel body）、ナノボディ（nanobody）、IgNAR（サメ由来の一本鎖抗体）、小モジュール分子免疫薬剤（small-modular immunopharmaceuticals）（SMIPs）およびFab、Fab'、F(ab')₂などのような抗体フラグメントが挙げられる。Streltsov VAら、Structure of a shark IgNAR antibody variable domain and modeling of an early-developmental isotype, Protein Sci. 2005 Nov; 14(11):2901-9. Epub 2005 Sep 30; Greenberg ASら、A new antigen receptor gene family that undergoes rearrangement and extensive somatic diversification in sharks, Nat

10

20

30

40

50

ure. 1995 Mar 9; 374 (6518): 168-73; Nuttall SD^ら, Isolation of the new antigen receptor from wobbegong sharks, and use as a scaffold for the display of protein loop libraries, Mol Immunol. 2001 Aug; 38 (4): 313-26; Hamers-Casterman C^ら, Naturally occurring antibodies devoid of light chains, Nature. 1993 Jun 3; 363 (6428): 446-8; Gill DS^ら, Biopharmaceutical drug discovery using novel protein scaffolds, Curr Opin Biotechnol. 2006 Dec; 17 (6): 653-8. Epub 2006 Oct 19

10

【0081】

例えば、遺伝子工学により抗体または抗原結合フラグメントを作製してもよい。この技術では、他の方法と同様に抗体産生細胞を所望の抗原または免疫原に対して感作させる。抗体産生細胞から単離したメッセンジャーRNAを鋳型として利用し、PCR増幅を用いてcDNAを作製する。増幅された免疫グロブリンcDNAの適当なセクションを発現ベクター内に挿入することにより、それぞれが最初の抗原特異性を保持した1種類の重鎖遺伝子と1種類の軽鎖遺伝子を含むベクターのライブラリーを作製する。重鎖遺伝子ライブラリーと軽鎖遺伝子ライブラリーを組み合わせて、コンビナトリアルライブラリーを構築する。これにより、重鎖と軽鎖（抗体分子のFabフラグメントまたは抗原結合フラグメントと類似している）を同時発現するクローンのライブラリーが得られる。これらの遺伝子を有するベクターを宿主細胞内に同時形質移入する。形質移入された宿主内で抗体遺伝子の合成が誘導されると、重鎖と軽鎖のタンパク質が自己集合して、抗原または免疫原によるスクリーニングで検出することができる活性な抗体が生じる。

20

【0082】

目的とする抗体コード配列には、天然の配列によりコードされるものだけでなく、遺伝暗号の縮重により本開示の核酸と配列が一致しない核酸およびその変異体によりコードされるものも含まれる。変異体ポリペプチドはアミノ酸 (aa) の置換、付加および欠失を含み得る。アミノ酸置換は、保存的アミノ酸置換であっても、グリコシル化部位を改変するため、または機能上不要な1つ以上のシステイン残基の置換もしくは欠失によりミスフォールディングを最小化するために非必須アミノ酸を除去する置換であってもよい。タンパク質の特定の領域（例えば、機能ドメイン、触媒アミノ酸残基など）の増強された生物活性を保持するまたは有するように変異体を設計してもよい。変異体はほかにも、本明細書に開示されるポリペプチドのフラグメント、特に生物学的に活性なフラグメントおよび／または機能ドメインに対応するフラグメントを含む。クローン化遺伝子の *in vitro* 変異誘発の技術は公知である。また、タンパク質分解に対する耐性を向上させるため、または溶解度特性を最適化するため、または治療剤としての適性を高めるために通常の分子生物学的技術を用いて改変されたポリペプチドも本発明に含まれる。

30

【0083】

本明細書のキメラ抗体は、少なくとも2つの異なる抗体の一部を1つ以上組み合わせることにより得られる任意の抗体を包含し、組み合わせる抗体は同じ種のものであっても、ことなる種のものであってもよい。キメラ抗体は一般に、ヒト抗体に由来する部分と非ヒト抗体に由来する部分とを含んでいる。本明細書では、キメラ抗体はヒト化抗体を含むが、これはヒト化抗体がヒト抗体由来の部分と非ヒト抗体由来の部分とを含んでいる、すなわち、ヒト化抗体は通常、ヒトフレームワーク残基と非ヒト抗体CDRとを含むからである。したがって、本出願では、キメラ抗体とヒト化抗体が互換的に記載されることがある。

40

【0084】

キメラ抗体は、1種の抗体産生細胞から得られた軽鎖および重鎖の可変領域 (V_L およ

50

び V_H)と、別の種に由来する軽鎖および重鎖の定常領域とを組み合わせ、組換え手段により作製され得る。しかし、本明細書に記載されているように、「キメラ抗体またはキメラ抗体フラグメント」は、少なくとも2つの異なる抗体から生じるまたはこれに由来するアミノ酸残基を含む、任意の抗体または抗体フラグメントを広く包含するものとし、上記少なくとも2つの異なる抗体は同じ種のものであっても、異なる種のものであってもよい。本明細書では通常、キメラ抗体は、大部分がヒトドメインである抗体を作製するために、げっ歯類またウサギの可変領域とヒト定常領域を組み合わせたものである。このようなキメラ抗体の作製は当該技術分野で公知であり、標準的な手段(例えば、内容全体が参照により本明細書に組み込まれる米国特許第5,624,659号記載されている)により行うことができる。さらに、本発明のキメラ抗体のヒト定常領域は、IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgG5、IgG6、IgG7、IgG8、IgG9、IgG10、IgG11、IgG12、IgG13、IgG14、IgG15、IgG16、IgG17、IgG18またはIgG19の定常領域から選択されることが考慮される。

【0085】

本発明によるヒト化抗体は通常、さらに多くのヒト様免疫グロブリンドメインを含むように設計され、動物由来の抗体の相補性決定領域だけ(全部またはほとんど)を組み込み得るが、動物由来の抗体のフレームワーク残基が1つ以上存在していてもよい。免疫原性を回避するためにこれを最小限にするのが好ましい。このことは、モノクローナル抗体可変領域の超可変ループ配列を慎重に検討してからヒト抗体鎖の構造に適合させることにより達成される。この工程は表面的には複雑であるが、実際には単純である。例えば、全体が参照により本明細書に組み込まれる米国特許第6,187,287号を参照されたい。場合により、例えば、置換された残基がヒト抗体の同じ位置で頻繁にみられるものであれば、および/または改変が抗原結合に悪影響を及ぼさないものであれば、ヒト化抗体内の動物由来抗体の1つ以上のCDR残基を改変してもよい。

【0086】

完全な免疫グロブリン(またはその組換えによる対応物)、エピトープ結合部位を含む免疫グロブリンフラグメント(例えば、Fab'、F(ab')₂その他のフラグメント)を合成してもよい。組換え免疫グロブリン技術を用いて「フラグメント」または最小限の免疫グロブリンを設計してもよい。例えば、融合軽鎖可変領域と重鎖可変領域を合成することにより、本発明で使用する「Fv」免疫グロブリンを作製してもよい。また抗体を組み合わせ、例えば、2つの異なるFv特異性を有する二特異性抗体も対象となる。本発明の別の実施形態では、SMIPs(小分子免疫薬剤(small molecule immunopharmaceuticals))、キャメルボディ(camelbody)、ナノボディ(nanobody)およびIgNARが免疫グロブリンフラグメントに包含される。

【0087】

免疫グロブリンおよびそのフラグメントを翻訳後に修飾して、例えば、化学的リンカーのようなエフェクター部分、検出可能な部分、例えば蛍光色素、酵素、毒素、基質、生物発光物質、放射性物質、化学発光部分などを付加してもよく、あるいは本発明の方法および組成物にストレプトアビジン、アビジンまたはビオチンなどのような特異的結合部分を使用してもよい。追加のエフェクター分子の例は後に記載する。

【0088】

遺伝暗号に従ったポリヌクレオチド配列の翻訳によりポリペプチド配列が生じる場合、そのポリヌクレオチド配列は生じたポリペプチド配列に「対応する」(すなわち、そのポリヌクレオチド配列は生じたポリペプチド配列を「コードする」)ことになり、2つの配列が同じポリペプチド配列をコードする場合、1つのポリヌクレオチド配列がもう1つのポリヌクレオチド配列に「対応する」ことになる。

【0089】

DNA構築物の「異種」領域またはドメインとは、より大きなDNA分子内にあり、天然ではその大きな分子と関連してみられない、識別可能なDNAのセグメントのことであ

10

20

30

40

50

る。したがって、異種領域が哺乳動物遺伝子をコードしている場合、その遺伝子には通常、入手源の生物体のゲノム内ではその哺乳動物ゲノムDNAに隣接していないDNAが隣接している。異種領域のもう1つの例は、コード配列自体が天然にみられない構築物である（例えば、ゲノムコード配列が、イントロンを含んでいるか、または天然の遺伝子とは異なるコドンを含む合成配列を含んでいるcDNA）。対立遺伝子変異または天然の突然変異事象によって本明細書に記載のようなDNAの異種領域が生じることはない。

【0090】

「コード配列」とは、（遺伝暗号の点から）タンパク質またはペプチドの配列に対応する、またはこれをコードするコドンのインフレーム配列のことである。2つのコード配列またはその相補的な配列が同じアミノ酸配列をコードしている場合、両コード配列は互いに対応していることになる。適当な制御配列と結合したコード配列が転写および翻訳されて、ポリペプチドが生じ得る。ポリアデニル化シグナル／転写終止配列は通常、コード配列の3'側に位置する。「プロモーター配列」とは、細胞内のRNAポリメラーゼと結合して、下流（3'方向）のコード配列の転写を開始させることができるDNA制御領域のことである。プロモーター配列は通常、コード配列の転写に影響を及ぼす制御分子（例えば、転写因子）と結合するための部位をさらに含んでいる。RNAポリメラーゼが細胞内のプロモーター配列と結合してコード配列をmRNAに転写し、次いでそのmRNAが、コード配列によりコードされるタンパク質に翻訳される場合、そのコード配列は、プロモーター配列の「制御下にある」、またはプロモーターと「作動可能に連結されている」ことになる。

【0091】

ベクターは、DNA、RNAまたはタンパク質のような外来物質を生物体または宿主細胞内に導入するために使用されるものである。典型的なベクターには組換えウイルス（ポリヌクレオチド用）およびリボソーム（ポリペプチド用）がある。「DNAベクター」とは、別のポリヌクレオチドセグメントを結合させて、その結合したセグメントの複製を生じさせるプラスミド、ファージまたはコスミドのようなレプリコンのことである。「発現ベクター」とは、適当な宿主細胞によるポリペプチド合成を指令する制御配列を含むDNAベクターのことである。これは通常、RNAポリメラーゼと結合してmRNAの転写を開始するプロモーターだけでなく、リボソーム結合部位およびmRNAのポリペプチド（1つまたは複数）への翻訳を指令する開始シグナルも意味する。発現ベクターの的確なリーディングフレーム内の適切な部位にポリヌクレオチド配列を組み込み、そのベクターによって適当な宿主細胞が形質転換されれば、前記ポリヌクレオチド配列にコードされるポリペプチドの産生が可能になる。

【0092】

ポリヌクレオチド配列の「増幅」とは、特定の核酸配列の複数コピーを*in vitro*で生成することである。増幅された配列は通常、DNAの形態である。このような増幅を行うための各種技術がVan Bruntによる総説（1990, Bio/Technology, 8（4）：291-294）に記載されている。ポリメラーゼ連鎖反応すなわちPCRは核酸増幅の原型であり、本明細書におけるPCRの使用は他の適当な増幅技術の例と見なされるべきである。

【0093】

脊椎動物の抗体の一般的な構造は、現在ではよく理解されている（Edelman, G. M., Ann. N. Y. Acad. Sci., 190: 5（1971））。抗体は分子量約23,000ダルトンの同一の軽ポリペプチド鎖（「軽鎖」）2本と、分子量53,000～70,000の同一の重ポリペプチド鎖（「重鎖」）2本とで構成されている。この4本の鎖がジスルフィド結合で結合して「Y字型」構造を形成し、この構造の中で、軽鎖は「Y字型」構造の口の部分から始まる腕木として重鎖を支える形になっている。「Y字型」構造の「枝」の部分はF_ab領域と呼ばれ、「Y字型」構造の幹の部分はF_c領域と呼ばれる。アミノ酸配列の方向は、「Y字型」構造上端をN-末端、各鎖下端をC末端とするものである。N-末端は抗原により生じた抗原に対する特異性を有する可変領域

10

20

30

40

50

をもち、長さが約100アミノ酸であり、軽鎖と重鎖の間および抗体間でわずかな違いがみられる。

【0094】

各鎖の可変領域は、各鎖の残りの長さにわたる定常領域と連結しており、特定のクラスの抗体内ではその抗体の特異性（すなわち、特異性を生じさせる抗原）に違いはみられない。免疫グロブリン分子のクラスを決定する定常領域は主に5種類が知られている（IgG、IgM、IgA、IgDおよびIgEは γ 、 μ 、 α 、 δ および ϵ （ガンマ、ミュー、アルファ、デルタおよびイプシロン）重鎖定常領域に対応する）。定常領域またはクラスは、後に生じる補体活性化（Kabat, E. A., *Structural Concepts in Immunology and Immunochemistry*, 第2版, p. 413-436, Holt, Rinehart, Winston (1976)) およびその他の細胞応答（Andrews, D. W. ら, *Clinical Immunobiology*, pp 1-18, W. B. Sanders (1980); Kohl, S. ら, *Immunology*, 48:187 (1983)) を含めた抗体のエフェクター機能を決定し、可変領域は、自身が反応する抗原を決定する。軽鎖は κ （カッパ）と λ （ラムダ）に分類される。各重鎖クラスはカッパ軽鎖またはラムダ軽鎖を用いて調製することができる。免疫グロブリンがハイブリドーマまたはB細胞により生成されると、軽鎖と重鎖が共有結合により互いに結合し、2本の重鎖の「尾」の部分が共有結合のジスルフィド結合により互いに結合している。

【0095】

「可変領域」または「VR」という語句は、抗体の軽鎖と重鎖の対それぞれにあって、抗体と抗原の結合に直接関与するドメインを指す。各重鎖は一端が可変ドメイン（ V_H ）で、これに数個の定常ドメインが続いている。各軽鎖は一端が可変ドメイン（ V_L ）、他端が定常ドメインであり、軽鎖の定常ドメインは重鎖の最初の定常ドメインと並び、軽鎖可変ドメインは重鎖の可変ドメインと並んでいる。

【0096】

「相補性決定領域」、「超可変領域」または「CDR」という語句は、抗体の軽鎖または重鎖の可変領域内にある1つ以上の超可変領域または相補性決定領域（CDR）を指す（Kabat, E. A. ら, *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, National Institutes of Health, Bethesda, Md., (1987) を参照されたい）。上記語句には、Kabatらにより定義される超可変領域（“Sequences of Proteins of Immunological Interest,” Kabat E. ら, US Dept. of Health and Human Services, 1983）または抗体の三次元構造の超可変ループ（ChothiaおよびLesk, *J Mol. Biol.* 196 901-917 (1987)）が含まれる。各鎖のCDRはフレームワーク領域によって互いに近接して取り囲まれており、他の鎖のCDRとともに抗原結合部位の形成に関与する。CDR内には、抗体-抗原相互作用でCDRにより利用される重要な接触残基となる選択性決定領域（SDR）と呼ばれる選択アミノ酸が存在する（Kashmiri, S., *Methods*, 36:25-34 (2005)）。

【0097】

「フレームワーク領域」または「FR」という語句は、抗体の軽鎖と重鎖の可変領域内にある1つ以上のフレームワーク領域を指す（Kabat, E. A. ら, *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, National Institutes of Health, Bethesda, Md., (1987) を参照されたい）。上記語句には、抗体の軽鎖と重鎖の可変領域内にあるCDRの間に位置するアミノ酸配列の領域が含まれる。

【0098】

NGFに対して結合活性を有するAnti-NGF抗体およびその結合フラグメント

抗体A b 1

1つの例示の実施形態では、本発明は、抗体A b 1もしくはそのフラグメント、またはA b 1と同じもしくは重複するエピトープと結合する抗体もしくは抗体フラグメント、および疼痛または無痛覚症の治療または予防における、単独でのその使用または別の活性作用物質、例えば、NSAIDもしくはオピオイド鎮痛剤または別の生物製剤とのその併用を提供し、前記抗体または抗体フラグメントは、NGFとTrkAとの結合およびNGFとp75との結合を阻害し、かつ／または疼痛を抑制もしくは予防する。一実施形態では、本発明は、NGFに対する結合特異性を有し、かつ次に記載する配列を含む可変軽鎖配列を有する、キメラ抗体を含む：

ALVMTQTTPSSVSAAVGGTVTINCQASQNIYSNLAWYQQRPGQRPKLLIYGASNLDAGVPSRFRGSGSGTEYTLTISDLECD
DDVGTYYCQSAFDSDESTENTFGGGTEVVVKR（配列番号1）。

【0099】

また本発明は、NGFに対する結合特異性を有し、かつ次に記載する配列を含む軽鎖配列を有する、キメラ抗体も含む：

ALVMTQTTPSSVSAAVGGTVTINCQASQNIYSNLAWYQQRPGQRPKLLIYGASNLDAGVPSRFRGSGSGTEYTLTISDLECD
DDVGTYYCQSAFDSDESTENTFGGGTEVVVKRTVAAPSVFI
FPPSDEQLKSGTASVVCLLNIFYPREAKVQWKVDNALQSG
NSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC（配列番号2）。

【0100】

さらに本発明は、NGFに対する結合特異性を有し、かつ次に記載する配列を含む可変重鎖配列を有する、キメラ抗体も含む：

QSLEESGGRLVTPGTPLTLTCTVSGFSLSSYAMSWVRQAP
GKGLEWIGVITSIGSTVYASWAKGRFTISKSTSTTVDLKIT
SPTTEDTATYFCARGYDDYDEMTYFNIWGQGTLLVTVSS（配列番号3）。

【0101】

また本発明は、NGFに対する結合特異性を有し、かつ次に記載する配列を含む重鎖配列を有する、キメラ抗体も含む：

QSLEESGGRLVTPGTPLTLTCTVSGFSLSSYAMSWVRQAP
GKGLEWIGVITSIGSTVYASWAKGRFTISKSTSTTVDLKIT
SPTTEDTATYFCARGYDDYDEMTYFNIWGQGTLLVTVSSAS
TKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYFPEPVTVSWN
SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYI
CNVNHKPSNTKVKDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPS
VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYV
DGVVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVHLHQLDNLNGKEY
KCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMT
KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWEESNGQPENNYKTTTPVLD
SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQK
SLSLSPGK（配列番号4）。

【0102】

さらに本発明は、配列番号1の可変軽鎖配列もしくは配列番号2の軽鎖配列の相補性決定領域（CDRもしくは超可変領域）に対応する配列番号5、配列番号6および配列番号7のポリペプチド配列を1つ以上、ならびに／または配列番号3の可変重鎖配列もしくは配列番号4の重鎖配列の相補性決定領域（CDRもしくは超可変領域）に対応する配列番号8、配列番号9および配列番号10のポリペプチド配列を1つ以上、または上記ポリペプチド配列の組合せを含む、抗体を企図する。本発明の別の実施形態では、本発明の抗体

10

20

30

40

50

またはそのフラグメントは、上記すべてを含めた、上記C D R、可変重鎖および可変軽鎖配列ならびに重鎖および軽鎖配列の1つ以上の組合せを含むか、あるいはこれよりなる。

【0103】

また本発明は、N G Fに対する結合特異性を有する抗体のフラグメントも企図する。本発明の一実施形態では、本発明の抗体フラグメントは、配列番号1または配列番号2のポリペプチド配列を含むか、あるいはこれよりなる。本発明の別の実施形態では、本発明の抗体フラグメントは、配列番号3または配列番号4のポリペプチド配列を含むか、あるいはこれよりなる。

【0104】

本発明のさらなる実施形態では、N G Fに対する結合特異性を有する抗体のフラグメントは、配列番号1の可変軽鎖配列または配列番号2の軽鎖配列の相補性決定領域（C D Rまたは超可変領域）に対応する配列番号5、配列番号6および配列番号7のポリペプチド配列1つ以上含むか、あるいはこれよりなる。

10

【0105】

本発明のさらなる実施形態では、N G Fに対する結合特異性を有する抗体のフラグメントは、配列番号3の可変重鎖配列または配列番号4の重鎖配列の相補性決定領域（C D Rまたは超可変領域）に対応する配列番号8、配列番号9および配列番号10のポリペプチド配列を1つ以上含むか、あるいはこれよりなる。

【0106】

また本発明は、本明細書に記載の抗体フラグメントを1つ以上含む抗体フラグメントも企図する。本発明の一実施形態では、N G Fに対する結合特異性を有する抗体のフラグメントは、次に挙げる抗体フラグメントを、そのすべても含め、1つ、2つ、3つまたはそれ以上含むか、あるいはこれよりなる：配列番号1の可変軽鎖領域；配列番号3の可変重鎖領域；配列番号1の可変軽鎖領域の相補性決定領域（配列番号5、配列番号6および配列番号7）；および配列番号3の可変重鎖領域の相補性決定領域（配列番号8、配列番号9および配列番号10）。

20

【0107】

本発明の特に好適な実施形態では、キメラ抗N G F抗体は、配列番号2および配列番号4を含むか、あるいはこれよりなり、かつ本明細書に記載の生物活性を少なくとも1つ有する、A b 1である。

30

【0108】

本発明の特に好適なさらなる実施形態では、抗体フラグメントは、本明細書に記載のN G Fに対する結合特異性を有するF a b（抗原結合）フラグメントまたはM e t M a b様一価薬剤を含むか、あるいはこれよりなる。抗体A b 1に関して、F a bフラグメントは、配列番号1の可変軽鎖配列と配列番号3の可変重鎖配列とを含む。本発明のこの実施形態は、N G Fに対する結合特異性を保持した状態での前記F a b内の配列番号1および／または配列番号3に対する付加、欠失および変異をさらに企図する。

【0109】

本明細書に記載の本発明の一実施形態（下記）では、A b 1の酵素的消化（例えば、パパイン）によりF a bフラグメントを作製してもよい。本発明の別の実施形態では、C H O、N S OもしくはH E K 2 9 3細胞などの哺乳動物細胞、真菌、昆虫、植物、動物、または細菌細胞もしくは酵母細胞（例えば、二倍体ピキア属（P i c h i a）のような二倍体酵母）その他の酵母菌株などの微生物系での発現により、A b 1またはそのF a bフラグメントのような抗N G F抗体を作製してもよい。適当なピキア（P i c h i a）種としては、特に限定されないが、ピキア・パストリス（P i c h i a p a s t o r i s）が挙げられる。

40

【0110】

抗体A b 2

1つの例示的实施形態では、本発明は、抗体A b 2もしくはそのフラグメント、またはA b 2と同じもしくは重複するエピトープと結合する抗体もしくは抗体フラグメント、お

50

よび疼痛または無痛覚症の治療または予防における、単独でのその使用または別の活性作用物質、例えば、NSAIDもしくはオピオイド鎮痛剤または別の生物製剤とのその併用を提供し、前記抗体または抗体フラグメントは、NGFとTrkAとの結合およびNGFとp75との結合を阻害し、かつ／または疼痛を抑制もしくは予防する。一実施形態では、本発明は、NGFに対する結合特異性を有し、かつ次に記載する配列を含む可変軽鎖配列を有する、キメラ抗体またはヒト化抗体を含む：

DIQMTQSPSTLSASVGDRTITCQASQNIYSNLAWYQQKPGKAPKLLIYGASNLDAGVPSRFSGSGSGTEYTLTISSLQPD

【0111】

また本発明は、NGFに対する結合特異性を有し、かつ次に記載する配列を含む軽鎖配列を有する、キメラ抗体またはヒト化抗体も含む：

DIQMTQSPSTLSASVGDRTITCQASQNIYSNLAWYQQKPGKAPKLLIYGASNLDAGVPSRFSGSGSGTEYTLTISSLQPD

【0112】

さらに本発明は、NGFに対する結合特異性を有し、かつ次に記載する配列を含む可変重鎖配列を有する、キメラ抗体またはヒト化抗体も含む：

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTVSSYAMSWVRQAPGKGLEWVGVI

【0113】

また本発明は、NGFに対する結合特異性を有し、かつ次に記載する配列を含む重鎖配列を有する、キメラ抗体またはヒト化抗体も含む：

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTVSSYAMSWVRQAPGKGLEWVGVI

【0114】

さらに本発明は、配列番号11の可変軽鎖配列もしくは配列番号12の軽鎖配列の相補性決定領域（CDRもしくは超可変領域）に対応する配列番号15、配列番号16および配列番号17のポリペプチド配列を1つ以上、ならびに／または配列番号13の可変重鎖配列もしくは配列番号14の重鎖配列の相補性決定領域（CDRもしくは超可変領域）に対応する配列番号18、配列番号19および配列番号20のポリペプチド配列を1つ以上、または上記ポリペプチド配列の組合せを含む、抗体を企図する。本発明の別の実施形態では、本発明の抗体またはそのフラグメントは、上記すべてを含めた、上記CDR、可変重鎖および可変軽鎖配列ならびに重鎖および軽鎖配列の1つ以上の組合せを含むか、あるいはこれよりなる。

【0115】

また本発明は、NGFに対する結合特異性を有する抗体のフラグメントも企図する。本発明の一実施形態では、本発明の抗体フラグメントは、配列番号11または配列番号12のポリペプチド配列を含むか、あるいはこれよりなる。本発明の別の実施形態では、本発明の抗体フラグメントは、配列番号13または配列番号14のポリペプチド配列を含むか、あるいはこれよりなる。

【0116】

本発明のさらなる実施形態では、NGFに対する結合特異性を有する抗体のフラグメントは、配列番号11の可変軽鎖配列または配列番号12の軽鎖配列の相補性決定領域（CDRまたは超可変領域）に対応する配列番号15、配列番号16および配列番号17のポリペプチド配列を1つ以上含むか、あるいはこれよりなる。

10

【0117】

本発明のさらなる実施形態では、NGFに対する結合特異性を有する抗体のフラグメントは、配列番号13の可変重鎖配列または配列番号14の重鎖配列の相補性決定領域（CDRまたは超可変領域）に対応する配列番号18、配列番号19および配列番号20のポリペプチド配列を1つ以上含むか、あるいはこれよりなる。

【0118】

また本発明は、本明細書に記載の抗体フラグメントを1つ以上含む抗体フラグメントも企図する。本発明の一実施形態では、NGFに対する結合特異性を有する抗体のフラグメントは、次に挙げる抗体フラグメントを、そのすべても含め、1つ、2つ、3つまたはそれ以上含むか、あるいはこれよりなる：配列番号11の可変軽鎖領域；配列番号13の可変重鎖領域；配列番号11の可変軽鎖領域の相補性決定領域（配列番号15、配列番号16および配列番号17）；および配列番号13の可変重鎖領域の相補性決定領域（配列番号18、配列番号19および配列番号20）。

20

【0119】

本発明の特に好適な実施形態では、ヒト化抗NGF抗体は、配列番号12および配列番号14を含むか、あるいはこれよりなり、かつ本明細書に記載の生物活性を少なくとも1つ含む、Ab2である。

【0120】

本発明の特に好適なさらなる実施形態では、抗体フラグメントは、本明細書に記載のNGFに対する結合特異性を有するFab（抗原結合）フラグメントまたはMetMab様一価薬剤を含むか、あるいはこれよりなる。抗体Ab2に関して、Fabフラグメントは、配列番号11の可変軽鎖配列と配列番号13の可変重鎖配列とを含む。本発明のこの実施形態は、NGFに対する結合特異性を保持した状態での前記Fab内の配列番号11および／または配列番号13に対する付加、欠失および変異をさらに企図する。

30

【0121】

本発明の別の実施形態では、CHO、NSOもしくはHEK293細胞などの哺乳動物細胞、真菌、昆虫、植物、動物、または細菌細胞もしくは酵母細胞（例えば、二倍体ピキア属（*Pichia*）のような二倍体酵母）その他の酵母菌株などの微生物系での発現により、Ab2またはそのFabフラグメントのような抗NGF抗体を作製してもよい。適当なピキア（*Pichia*）種としては、特に限定されないが、ピキア・パストリス（*Pichia pastoris*）が挙げられる。

40

【0122】

抗体Ab3

1つの例示的实施形態では、本発明は、抗体Ab3もしくはそのフラグメント、またはAb3と同じもしくは重複するエピトープと結合する抗体もしくは抗体フラグメント、および疼痛または無痛覚症の治療または予防における、単独でのその使用または別の活性作用物質、例えば、NSAIDもしくはオピオイド鎮痛剤または別の生物製剤とのその併用を提供し、前記抗体または抗体フラグメントは、NGFとp75との結合に大幅に影響を及ぼすことなくNGFとTrkAとの結合を阻害し、かつ／または疼痛を抑制もしくは予

50

防する。一実施形態では、本発明は、NGFに対する結合特異性を有し、かつ次に記載する配列を含む可変軽鎖配列を有する、キメラ抗体を含む：

AVLTQTTPSPVSAAMGDTVTKCQSSQSVYKNNYLSWYQQK
PGQPPRLLIYDASNLP SGVPSRFSGSGSGTQFTLTISGVQ
CDDAATYYCLGDYDDDADNAFGGGTEVVVKR（配列番号21）。

【0123】

また本発明は、NGFに対する結合特異性を有し、かつ次に記載する配列を含む軽鎖配列を有する、キメラ抗体も含む：

AVLTQTTPSPVSAAMGDTVTKCQSSQSVYKNNYLSWYQQK
PGQPPRLLIYDASNLP SGVPSRFSGSGSGTQFTLTISGVQ
CDDAATYYCLGDYDDDADNAFGGGTEVVVKRTVAAPSVFI
FPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSG
NSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTH
QGGLSSPVTKSFNRGEC（配列番号22）。

10

【0124】

さらに本発明は、NGFに対する結合特異性を有し、かつ次に記載する配列を含む可変重鎖配列を有する、キメラ抗体を含む：

QSVEESGGRLVTPGTPLTLTCTVSGFSLSSYVMIWVRQAP
GKGLEYYIGITWSAGTYYASWAKGRFTISKTSSTTVDLKIT
SPTTEDTATYFCAGGGGSIYDIWGPGLVTVSS（配列番号23）。

20

【0125】

また本発明は、NGFに対する結合特異性を有し、かつ次に記載する配列を含む重鎖配列を有する、キメラ抗体も含む：

QSVEESGGRLVTPGTPLTLTCTVSGFSLSSYVMIWVRQAP
GKGLEYYIGITWSAGTYYASWAKGRFTISKTSSTTVDLKIT
SPTTEDTATYFCAGGGGSIYDIWGPGLVTVSSASTKGPS
VFPLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALT
SGVHTFPAVLQSSGLYSLSLVVTVPSSSLGTQTYICNVNH
KPSNTKVKDKRVEPKSCDKHTCPCPAPELLGGPSVFLFP
PKPKDTLMISRTPETCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEV
HNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV
SKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV
SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGS
FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLS
PGK（配列番号24）。

30

【0126】

さらに本発明は、配列番号21の可変軽鎖配列もしくは配列番号22の軽鎖配列の相補性決定領域（CDRもしくは超可変領域）に対応する配列番号25、配列番号26および配列番号27のポリペプチド配列を1つ以上、ならびに／または配列番号23の可変重鎖配列もしくは配列番号24の重鎖配列の相補性決定領域（CDRもしくは超可変領域）に対応する配列番号28、配列番号29および配列番号30のポリペプチド配列を1つ以上、または上記ポリペプチド配列の組合せを含む抗体を企図する。本発明の別の実施形態では、本発明の抗体またはそのフラグメントは、上記すべてを含めた、上記CDR、可変重鎖および可変軽鎖配列ならびに重鎖および軽鎖配列の1つ以上の組合せを含むか、あるいはこれよりなる。

40

【0127】

また本発明は、NGFに対する結合特異性を有する抗体のフラグメントも企図する。本発明の一実施形態では、本発明の抗体フラグメントは、配列番号21または配列番号22のポリペプチド配列を含むか、あるいはこれよりなる。本発明の別の実施形態では、本発

50

明の抗体フラグメントは、配列番号 2 3 または配列番号 2 4 のポリペプチド配列を含むか、あるいはこれよりなる。

【0128】

本発明のさらなる実施形態では、NGF に対する結合特異性を有する抗体のフラグメントは、配列番号 2 1 の可変軽鎖配列または配列番号 2 2 の軽鎖配列の相補性決定領域（CDR または超可変領域）に対応する配列番号 2 5、配列番号 2 6 および配列番号 2 7 のポリペプチド配列を 1 つ以上含むか、あるいはこれよりなる。

【0129】

本発明のさらなる実施形態では、NGF に対する結合特異性を有する抗体のフラグメントは、配列番号 2 3 の可変重鎖配列または配列番号 2 4 の重鎖配列の相補性決定領域（CDR または超可変領域）に対応する配列番号 2 8、配列番号 2 9 および配列番号 3 0 のポリペプチド配列を 1 つ以上含むか、あるいはこれよりなる。

【0130】

また本発明は、本明細書に記載の抗体フラグメントを 1 つ以上含む抗体フラグメントも企図する。本発明の一実施形態では、NGF に対する結合特異性を有する抗体のフラグメントは、次に挙げる抗体フラグメントを、そのすべても含め、1 つ、2 つ、3 つまたはそれ以上含むか、あるいはこれよりなる：配列番号 2 1 の可変軽鎖領域；配列番号 2 3 の可変重鎖領域；配列番号 2 1 の可変軽鎖領域の相補性決定領域（配列番号 2 5、配列番号 2 6 および配列番号 2 7）；および配列番号 2 3 の可変重鎖領域の相補性決定領域（配列番号 2 8、配列番号 2 9 および配列番号 3 0）。

【0131】

本発明の特に好ましい一実施形態では、キメラ抗 NGF 抗体は、配列番号 2 2 および配列番号 2 4 を含むか、代替的にはそれらで構成され、そして本明細書中に記述される生物学的活性のうちの少なくとも 1 つを有する Ab 3 である。

【0132】

本発明のさらなる特に好ましい一実施形態では、抗体フラグメントは、NGF に関する結合特異性を有する Fab（フラグメント抗原結合）フラグメント、または本明細書中に記載される Met Mab 様一価薬剤を含むか、代替的にはそれらで構成される。抗体 Ab 3 に関しては、Fab フラグメントは、配列番号 2 1 の可変軽鎖配列、ならびに配列番号 2 3 の可変重鎖配列を包含する。本発明のこの実施形態は、NGF に関する結合特異性を保持しながら、上記 Fab における配列番号 2 1 および／または配列番号 2 3 の付加、欠失および変異をさらに企図する。

【0133】

本明細書中に記載される（下記）本発明の一実施形態では、Fab フラグメントは、Ab 3 の酵素的消化（例えばパパイン）により産生され得る。本発明の別の実施形態では、抗 NGF 抗体、例えば Ab 3 またはその Fab フラグメントは、CHO、NSO または HEK 293 細胞のような哺乳類細胞、真菌、昆虫、植物、動物または微生物系、例えば細菌または酵母細胞（例えば、二倍体酵母、例えば二倍体ピキア属）および他の酵母系統における発現により産生され得る。適切なピキア種としてはピキア・パストリス（*Pichia pastoris*）が挙げられるが、これに限定されない。

抗体 Ab 4

【0134】

例示的一実施形態では、本発明は、抗体 Ab 4 またはそのフラグメント、あるいは Ab 4 と同一のまたは重複するエピトープと結合する抗体または抗体フラグメントを、そして、単独で、または別の活性作用物質、例えば NSAID またはオピオイド鎮痛薬または別の生物製剤と連携して、疼痛または無痛覚症を処置するかまたは防止する場合におけるその使用を提供するが、この場合、上記の抗体または抗体フラグメントは、NGF と Trk A との会合を抑制し、そして NGF と p 7 5 との会合に対して容易に感知できるほど影響を及ぼさないし、および／または疼痛を抑制するかまたは防止する。一実施形態では、本発明は、NGF との結合特異性を有し、そして下記の配列を含む可変軽鎖配列を保有する

キメラまたはヒト化抗体を包含する：

【化 1】

DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCQSSQSVYKNNYLSWYQQKPGKAPKLLIYDASNL
PSGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPDDFATYYCLGDYDDDADNAFGGGTKVEIKR
(配列番号 3 1)。

【0 1 3 5】

本発明は、NGFとの結合特異性を有し、そして下記の配列を含む軽鎖配列を保有する
キメラまたはヒト化抗体も包含する：

【化 2】

DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCQSSQSVYKNNYLSWYQQKPGKAPKLLIYDASNL
PSGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPDDFATYYCLGDYDDDADNAFGGGTKVEIKRT
VAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVT
EQDSKDSSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
(配列番号 3 2)。

【0 1 3 6】

本発明はさらに、NGFとの結合特異性を有し、そして下記の配列を含む可変重鎖配列
を保有するキメラまたはヒト化抗体を包含する：

【化 3】

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTVSSYVMIWVRQAPGKGLYIGITWSAG
TYYASSAKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAGGGGSIYDIWGQGTL
VTVSS (配列番号 3 3)。

【0 1 3 7】

本発明は、NGFとの結合特異性を有し、そして下記の配列を含む重鎖配列を保有する
キメラまたはヒト化抗体も包含する：

【化 4】

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTVSSYVMIWVRQAPGKGLYIGITWSAG
TYYASSAKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAGGGGSIYDIWGQGTL
VTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH
TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTH
TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD
GVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK
TISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENN
YKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP
GK (配列番号 3 4)。

【0 1 3 8】

本発明はさらに、配列番号 3 1 の可変軽鎖配列の相補性決定領域 (CDR または超可変
領域) に対応する配列番号 3 5、配列番号 3 6 および配列番号 3 7 のポリペプチド配列、
または配列番号 3 2 の軽鎖配列のうちの 1 つ以上、および／または配列番号 3 3 の可変重
鎖配列の相補性決定領域 (CDR または超可変領域) に対応する配列番号 3 8、配列番号

10

20

30

40

50

39および配列番号40のポリペプチド配列、または配列番号34の重鎖配列のうちの1つ以上、あるいはこれらのポリペプチド配列の組合せを含む抗体を意図する。本発明の別の実施形態では、本発明の抗体またはそのフラグメントは、上記のCDR、可変重鎖および可変軽鎖配列、ならびに重鎖および軽鎖配列のうちの（それらのすべてを含めて）1つ以上の組合せを含み、代替的にはそれらで構成される。

【0139】

本発明は、NGFとの結合特性を有する抗体のフラグメントも意図する。本発明の一実施形態では、本発明の抗体フラグメントは、配列番号31または配列番号32のポリペプチド配列を含むか、代替的にはそれらで構成される。本発明の別の実施形態では、本発明の抗体フラグメントは、配列番号33または配列番号34のポリペプチド配列を含むか、代替的にはそれらで構成される。

10

【0140】

本発明のさらなる一実施形態では、NGFとの結合特異性を有する抗体のフラグメントは、配列番号31の可変軽鎖配列の相補性決定領域（CDRまたは超可変領域）に対応する配列番号35、配列番号36および配列番号37のポリペプチド配列、または配列番号32の軽鎖配列のうちの1つ以上を含むか、代替的にはそれらで構成される。

【0141】

本発明のさらなる一実施形態では、NGFとの結合特異性を有する抗体のフラグメントは、配列番号33の可変重鎖配列の相補性決定領域（CDRまたは超可変領域）に対応する配列番号38、配列番号39および配列番号40のポリペプチド配列、または配列番号34の重鎖配列のうちの1つ以上を含むか、代替的にはそれらで構成される。

20

【0142】

本発明は、本明細書中に記載される抗体フラグメントのうちの1つ以上を包含する抗体フラグメントも意図する。本発明の一実施形態では、NGFとの結合特異性を有する抗体のフラグメントは、以下の抗体フラグメントのすべてを含めて、1、2、3またはそれ以上を含むか、代替的にはそれらで構成される：配列番号31の可変軽鎖領域；配列番号33の可変重鎖領域；配列番号31の可変軽鎖領域の相補性決定領域（配列番号35、配列番号36、および配列番号37）；ならびに配列番号33の可変重鎖領域の相補性決定領域（配列番号38、配列番号39、および配列番号40）。

【0143】

本発明の特に好ましい一実施形態では、キメラまたはヒト化抗NGF抗体は、配列番号32および配列番号34を含むか、代替的にはそれらで構成され、そして本明細書中に記述される生物学的活性のうちの少なくとも1つを有するAb4である。

30

【0144】

本発明のさらなる特に好ましい一実施形態では、抗体フラグメントは、NGFに関する結合特異性を有するFab（フラグメント抗原結合）フラグメント、または本明細書中に記載されるMetMab様一価薬剤を含むか、代替的にはそれらで構成される。抗体Ab4に関しては、Fabフラグメントは、配列番号31の可変軽鎖配列、ならびに配列番号33の可変重鎖配列を包含する。本発明のこの実施形態は、NGFに関する結合特異性を保持しながら、上記Fabにおける配列番号31および／または配列番号33の付加、欠失および変異をさらに企図する。

40

【0145】

本明細書中に記載される（下記）本発明の一実施形態では、Fabフラグメントは、Ab4の酵素的消化（例えばパパイン）により産生され得る。本発明の別の実施形態では、抗NGF抗体、例えばAb4またはそのFabフラグメントは、CHO、NSOまたはHEK293細胞のような哺乳類細胞、真菌、昆虫、植物、動物または微生物系、例えば細菌または酵母細胞（例えば、二倍体酵母、例えば二倍体ピキア属）および他の酵母系統における発現により産生され得る。適切なピキア種としてはピキア・パストリス（*Pichia pastoris*）が挙げられるが、これに限定されない。

抗体Ab5

50

【0146】

例示的一実施形態では、本発明は、抗体Ab5またはそのフラグメント、あるいはAb5と同一のまたは重複するエピトープと結合する抗体または抗体フラグメントを、そして、単独で、または別の活性作用物質、例えばNSAIDまたはオピオイド鎮痛薬または別の生物製剤と連携して、疼痛または無痛覚症を処置するかまたは防止する場合におけるその使用を提供するが、この場合、上記の抗体または抗体フラグメントは、NGFとTrkAとの会合、およびNGFとp75との会合を抑制し、および／または疼痛を抑制するかまたは防止する。一実施形態では、本発明は、NGFとの結合特異性を有し、そして下記の配列を含む可変軽鎖配列を保有するキメラ抗体を包含する：

【化5】

AYDMTQTPASVEVAVGGTVTIKCQASQSIYSNLAWYQQRPGQPPKLLIYDASTLES
GVPSRFKGS GSGTEYTLTISGVECADAAASYCQQGFTVSDIDNAFGGGTEVVVKR

(配列番号41)。

【0147】

本発明は、NGFとの結合特異性を有し、そして下記の配列を含む軽鎖配列を保有するキメラ抗体も包含する：

【化6】

AYDMTQTPASVEVAVGGTVTIKCQASQSIYSNLAWYQQRPGQPPKLLIYDASTLES
GVPSRFKGS GSGTEYTLTISGVECADAAASYCQQGFTVSDIDNAFGGGTEVVVKRT
VAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVT
EQDSKDDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

(配列番号42)。

【0148】

本発明はさらに、NGFとの結合特異性を有し、そして下記の配列を含む可変重鎖配列を保有するキメラ抗体を包含する：

【化7】

QSVEESGGRLVTPGTPLTLTCTVSGFSLSNYAVGWVRQAPGKGLEWIGIIGRNGNT
WYASWARGRFTISKSTTTVDLKITSP TSED TATYFCARGYGRSVAYYVFNIWGP GT
LVTVSS (配列番号43)。

【0149】

本発明は、NGFとの結合特異性を有し、そして下記の配列を含む重鎖配列を保有するキメラ抗体も包含する：

10

20

30

【化 8】

QSVEESGGRLVTPGTPLTLTCTVSGFSLSNYAVGWVRQAPGKGLEWIGIIGRNGNT
WYASWARGRFTISKSTSTTVDLKITSPTS EDTATYFCARGYGRSVAYYVFNIWGP
LTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS
GVTHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRV
EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV
SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQD
WLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKN
QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLT
VDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号 44)。

10

【0150】

本発明はさらに、配列番号 41 の可変軽鎖配列の相補性決定領域 (CDR または超可変領域) に対応する配列番号 45、配列番号 46、および配列番号 47 のポリペプチド配列、または配列番号 42 の軽鎖配列のうちの 1 つ以上、および／または配列番号 43 の可変重鎖配列の相補性決定領域 (CDR または超可変領域) に対応する配列番号 48、配列番号 49、および配列番号 50 のポリペプチド配列、または配列番号 44 の重鎖配列のうちの 1 つ以上、あるいはこれらのポリペプチド配列の組合せを含む抗体を意図する。本発明の別の実施形態では、本発明の抗体またはそのフラグメントは、上記の CDR、可変重鎖および可変軽鎖配列、ならびに重鎖および軽鎖配列のうちの (それらのすべてを含めて) 1 つ以上の組合せを含み、代替的にはそれらで構成される。

20

【0151】

本発明は、NGF との結合特性を有する抗体のフラグメントも意図する。本発明の一実施形態では、本発明の抗体フラグメントは、配列番号 41 または配列番号 42 のポリペプチド配列を含むか、代替的にはそれらで構成される。本発明の別の実施形態では、本発明の抗体フラグメントは、配列番号 43 または配列番号 44 のポリペプチド配列を含むか、代替的にはそれらで構成される。

30

【0152】

本発明のさらなる一実施形態では、NGF との結合特異性を有する抗体のフラグメントは、配列番号 41 の可変軽鎖配列の相補性決定領域 (CDR または超可変領域) に対応する配列番号 45、配列番号 46、および配列番号 47 のポリペプチド配列、または配列番号 42 の軽鎖配列のうちの 1 つ以上を含むか、代替的にはそれらで構成される。

【0153】

本発明のさらなる一実施形態では、NGF との結合特異性を有する抗体のフラグメントは、配列番号 43 の可変重鎖配列の相補性決定領域 (CDR または超可変領域) に対応する配列番号 48、配列番号 49、および配列番号 50 のポリペプチド配列、または配列番号 44 の重鎖配列のうちの 1 つ以上を含むか、代替的にはそれらで構成される。

40

【0154】

本発明は、本明細書中に記載される抗体フラグメントのうちの 1 つ以上を包含する抗体フラグメントも意図する。本発明の一実施形態では、NGF との結合特異性を有する抗体のフラグメントは、以下の抗体フラグメントのすべてを含めて、1、2、3 またはそれ以上を含むか、代替的にはそれらで構成される：配列番号 41 の可変軽鎖領域；配列番号 43 の可変重鎖領域；配列番号 41 の可変軽鎖領域の相補性決定領域 (配列番号 45、配列番号 46、および配列番号 47)；ならびに配列番号 43 の可変重鎖領域の相補性決定領域 (配列番号 48、配列番号 49、および配列番号 50)。

【0155】

本発明の特に好ましい一実施形態では、キメラ抗 NGF 抗体は、配列番号 42 および配

50

列番号44を含むか、代替的にはそれらで構成され、そして本明細書中に記述される生物学的活性のうちの少なくとも1つを有するAb5である。

【0156】

本発明のさらなる特に好ましい一実施形態では、抗体フラグメントは、NGFに関する結合特異性を有するFab（フラグメント抗原結合）フラグメント、または本明細書中に記載されるMetMab様一価薬剤を含むか、代替的にはそれらで構成される。抗体Ab5に関しては、Fabフラグメントは、配列番号41の可変軽鎖配列、ならびに配列番号43の可変重鎖配列を包含する。本発明のこの実施形態は、NGFに関する結合特異性を保持しながら、上記Fabにおける配列番号41および／または配列番号43の付加、欠失および変異をさらに企図する。

10

【0157】

本明細書中に記載される（下記）本発明の一実施形態では、Fabフラグメントは、Ab5の酵素的消化（例えばパパイン）により産生され得る。本発明の別の実施形態では、抗NGF抗体、例えばAb5またはそのFabフラグメントは、CHO、NSOまたはHEK293細胞のような哺乳類細胞、真菌、昆虫、植物、動物または微生物系、例えば酵母細胞（例えば、二倍体酵母、例えば二倍体ピキア属）および他の酵母系統における発現により産生され得る。適切なピキア種としてはピキア・パストリス（*Pichia pastoris*）が挙げられるが、これに限定されない。

抗体Ab6

【0158】

例示的一実施形態では、本発明は、抗体Ab6またはそのフラグメント、あるいはAb6と同一のまたは重複するエピトープと結合する抗体または抗体フラグメントを、そして、単独で、または別の活性作用物質、例えばNSAIDまたはオピオイド鎮痛薬または別の生物製剤と連携して、疼痛または無痛覚症を処置するかまたは防止する場合におけるその使用を提供するが、この場合、上記の抗体または抗体フラグメントは、NGFとTrkAとの会合を、ならびにNGFとp75との会合を抑制し、および／または疼痛を抑制するかまたは防止する。一実施形態では、本発明は、NGFとの結合特異性を有し、そして下記の配列を含む可変軽鎖配列を保有するキメラまたはヒト化抗体を包含する：

20

【化9】

DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCQASQSIYSNLAWYQQKPGKAPKLLIYDASTLESG
VPSRFGSGSGTEYTLTISSLQPDDFATYYCQQGFTVSDIDNAFGGGGTKVEIKR
（配列番号51）。

30

【0159】

本発明は、NGFとの結合特異性を有し、そして下記の配列を含む軽鎖配列を保有するキメラまたはヒト化抗体も包含する：

【化10】

DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCQASQSIYSNLAWYQQKPGKAPKLLIYDASTLESG
VPSRFGSGSGTEYTLTISSLQPDDFATYYCQQGFTVSDIDNAFGGGGTKVEIKRTVA
APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQ
DSKDYSTYLSSTLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
（配列番号52）。

40

【0160】

本発明はさらに、NGFとの結合特異性を有し、そして下記の配列を含む可変重鎖配列を保有するキメラまたはヒト化抗体を包含する：

【化 1 1】

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTVSNYAVGWVRQAPGKGLEWVGIIGRN
GNTWYASSARGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGYGRSVAYYVF
NIWGPGLTLVTVSS (配列番号 5 3)。

【0 1 6 1】

本発明は、NGFとの結合特異性を有し、そして下記の配列を含む重鎖配列を保有するキメラまたはヒト化抗体も包含する：

【化 1 2】

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTVSNYAVGWVRQAPGKGLEWVGIIGRN
GNTWYASSARGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGYGRSVAYYVF
NIWGPGLTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS
GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRV
PKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK
ALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES
NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYT
QKSLSLSPGK (配列番号 5 4)。

【0 1 6 2】

本発明はさらに、配列番号 5 1 の可変軽鎖配列の相補性決定領域 (CDR または超可変領域) に対応する配列番号 5 5、配列番号 5 6 および配列番号 5 7 のポリペプチド配列、または配列番号 5 2 の軽鎖配列のうちの 1 つ以上、および／または配列番号 5 3 の可変重鎖配列の相補性決定領域 (CDR または超可変領域) に対応する配列番号 5 8、配列番号 5 9、および配列番号 6 0 のポリペプチド配列、または配列番号 5 4 の重鎖配列のうちの 1 つ以上、あるいはこれらのポリペプチド配列の組合せを含む抗体を意図する。本発明の別の実施形態では、本発明の抗体またはそのフラグメントは、上記の CDR、可変重鎖および可変軽鎖配列、ならびに重鎖および軽鎖配列のうちの (それらのすべてを含めて) 1 つ以上の組合せを含み、代替的にはそれらで構成される。

【0 1 6 3】

本発明は、NGFとの結合特性を有する抗体のフラグメントも意図する。本発明の一実施形態では、本発明の抗体フラグメントは、配列番号 5 1 または配列番号 5 2 のポリペプチド配列を含むか、代替的にはそれらで構成される。本発明の別の実施形態では、本発明の抗体フラグメントは、配列番号 5 3 または配列番号 5 4 のポリペプチド配列を含むか、代替的にはそれらで構成される。

【0 1 6 4】

本発明のさらなる一実施形態では、NGFとの結合特異性を有する抗体のフラグメントは、配列番号 5 1 の可変軽鎖配列の相補性決定領域 (CDR または超可変領域) に対応する配列番号 5 5、配列番号 5 6 および配列番号 5 7 のポリペプチド配列、または配列番号 5 2 の軽鎖配列のうちの 1 つ以上を含むか、代替的にはそれらで構成される。

【0 1 6 5】

本発明のさらなる一実施形態では、NGFとの結合特異性を有する抗体のフラグメントは、配列番号 5 3 の可変重鎖配列の相補性決定領域 (CDR または超可変領域) に対応する配列番号 5 8、配列番号 5 9 および配列番号 6 0 のポリペプチド配列、または配列番号 5 4 の重鎖配列のうちの 1 つ以上を含むか、代替的にはそれらで構成される。

【0 1 6 6】

本発明は、本明細書中に記載される抗体フラグメントのうちの1つ以上を包含する抗体フラグメントも意図する。本発明の一実施形態では、NGFとの結合特異性を有する抗体のフラグメントは、以下の抗体フラグメントのすべてを含めて、1、2、3またはそれ以上を含むか、代替的にはそれらで構成される：配列番号51の可変軽鎖領域；配列番号53の可変重鎖領域；配列番号51の可変軽鎖領域の相補性決定領域（配列番号55、配列番号56および配列番号57）；ならびに配列番号53の可変重鎖領域の相補性決定領域（配列番号58、配列番号59および配列番号60）。

【0167】

本発明の特に好ましい一実施形態では、キメラまたはヒト化抗NGF抗体は、配列番号52および配列番号54を含むか、代替的にはそれらで構成され、そして本明細書中に記

10

【0168】

本発明のさらなる特に好ましい一実施形態では、抗体フラグメントは、NGFに関する結合特異性を有するFab（フラグメント抗原結合）フラグメント、または本明細書中に記載されるMetMab様一価薬剤を含むか、代替的にはそれらで構成される。抗体Ab6に関しては、Fabフラグメントは、配列番号51の可変軽鎖配列、ならびに配列番号53の可変重鎖配列を包含する。本発明のこの実施形態は、NGFに関する結合特異性を保持しながら、上記Fabにおける配列番号51および／または配列番号53の付加、欠失および変異をさらに企図する。

【0169】

20

本明細書中に記載される（下記）本発明の一実施形態では、Fabフラグメントは、Ab6の酵素的消化（例えばパパイン）により産生され得る。本発明の別の実施形態では、抗NGF抗体、例えばAb6またはそのFabフラグメントは、CHO、NSOまたはHEK293細胞のような哺乳類細胞、真菌、昆虫、植物、動物または微生物系、例えば細菌または酵母細胞（例えば、二倍体酵母、例えば二倍体ピキア属）および他の酵母系統における発現により産生され得る。適切なピキア種としてはピキア・パストリス（*Pichia pastoris*）が挙げられるが、これに限定されない。

抗体Ab7

【0170】

例示的一実施形態では、本発明は、抗体Ab7またはそのフラグメント、あるいはAb7と同一のまたは重複するエピトープと結合する抗体または抗体フラグメントを、そして、単独で、または別の活性作用物質、例えばNSAIDまたはオピオイド鎮痛薬または別の生物製剤と連携して、疼痛または無痛覚症を処置するかまたは防止する場合におけるその使用を提供するが、この場合、上記の抗体または抗体フラグメントは、NGFとTrkAとの会合を、ならびにNGFとp75との会合を抑制し、および／または疼痛を抑制するかまたは防止する。一実施形態では、本発明は、NGFとの結合特異性を有し、そして下記の配列を含む可変軽鎖配列を保有するキメラ抗体を包含する：

30

【化13】

ADVVMQTQTPASVSQPVGGTVTIKCQASEDIYNLLAWYQQKPGQPPKLLIYSASTL
ASGVPSRFKSGSGSTEYTLTISGLECADAATYYCQNNYLVTITYGVAFGGGTEVVV
KR（配列番号61）。

40

【0171】

本発明は、NGFとの結合特異性を有し、そして下記の配列を含む軽鎖配列を保有するキメラ抗体も包含する：

【化 1 4】

ADVVMQTQTPASVSQPVGGTVTIKCQASEDIYNLLAWYQQKPGQPPKLLIYSASTL
ASGVPSRFKSGSGTEYTLTISGLECADAATYYCQNNYLVTITYGVAFGGGTEVVV
KRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQE
SVTEQDSKDYSLSSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

(配列番号 6 2)。

【0 1 7 2】

本発明はさらに、NGFとの結合特異性を有し、そして下記の配列を含む可変重鎖配列を保有するキメラ抗体を包含する：

【化 1 5】

QEQLKESGGRLVTPGTPLTLTCTVSGFSLSSYAMIWVRQAPGKGLEYIGYIDTDT
S
A
Y
Y
A
S
W
V
K
G
R
F
T
I
S
R
T
S
T
T
V
D
L
K
I
T
S
P
T
T
E
D
T
A
T
Y
F
C
A
R
S
Y
A
A
Y
G
G
Y
P
A
T
F
D
P
W
G
P
G
T
L
V
T
V
S
S (配列番号 6 3)。

【0 1 7 3】

本発明は、NGFとの結合特異性を有し、そして下記の配列を含む重鎖配列を保有するキメラ抗体も包含する：

【化 1 6】

QEQLKESGGRLVTPGTPLTLTCTVSGFSLSSYAMIWVRQAPGKGLEYIGYIDTDT
S
A
Y
Y
A
S
W
V
K
G
R
F
T
I
S
R
T
S
T
T
V
D
L
K
I
T
S
P
T
T
E
D
T
A
T
Y
F
C
A
R
S
Y
A
A
Y
G
G
Y
P
A
T
F
D
P
W
G
P
G
T
L
V
T
V
S
S
A
S
T
K
G
P
S
V
F
L
A
P
S
S
K
S
T
S
G
G
T
A
A
L
G
C
L
V
K
D
Y
F
P
E
P
V
T
V
S
W
N
S
G
A
L
T
S
G
V
H
T
F
P
A
V
L
Q
S
S
G
L
Y
S
L
S
S
V
V
T
V
P
S
S
L
G
T
Q
T
Y
I
C
N
V
N
H
K
P
S
N
T
K
V
D
K
R
V
E
P
K
S
C
D
K
T
H
T
C
P
P
C
A
P
E
L
L
G
G
P
S
V
F
L
F
P
P
K
P
K
D
T
L
M
I
S
R
T
P
E
V
T
C
V
V
D
V
S
H
E
D
P
E
V
K
F
N
W
Y
V
D
G
V
E
V
H
N
A
K
T
K
P
R
E
E
Q
Y
A
S
T
Y
R
V
V
S
V
L
T
V
L
H
Q
D
W
L
N
G
K
E
Y
K
C
K
V
S
N
K
A
L
P
A
P
I
E
K
T
I
S
K
A
K
G
Q
P
R
E
P
Q
V
Y
T
L
P
P
S
R
E
E
M
T
K
N
Q
V
S
L
T
C
L
V
K
G
F
Y
P
S
D
I
A
V
E
W
E
S
N
G
Q
P
E
N
N
Y
K
T
T
P
V
L
D
S
D
G
S
F
F
L
Y
S
K
L
T
V
D
K
S
R
W
Q
Q
G
N
V
F
S
C
S
V
M
H
E
A
L
H
N
H
Y
T
Q
K
S
L
S
L
S
P
G
K (配列番号 6 4)。

【0 1 7 4】

本発明はさらに、配列番号 6 1 の可変軽鎖配列の相補性決定領域 (CDR または超可変領域) に対応する配列番号 6 5、配列番号 6 6 および配列番号 6 7 のポリペプチド配列、または配列番号 6 2 の軽鎖配列のうちの 1 つ以上、および／または配列番号 6 3 の可変重鎖配列の相補性決定領域 (CDR または超可変領域) に対応する配列番号 6 8、配列番号 6 9、および配列番号 7 0 のポリペプチド配列、または配列番号 6 4 の重鎖配列のうちの 1 つ以上、あるいはこれらのポリペプチド配列の組合せを含む抗体を意図する。本発明の別の実施形態では、本発明の抗体またはそのフラグメントは、上記の CDR、可変重鎖および可変軽鎖配列、ならびに重鎖および軽鎖配列のうちの (それらのすべてを含めて) 1 つ以上の組合せを含み、代替的にはそれらで構成される。

【0 1 7 5】

本発明は、NGFとの結合特性を有する抗体のフラグメントも意図する。本発明の一実施形態では、本発明の抗体フラグメントは、配列番号 6 1 または配列番号 6 2 のポリペプチド配列を含むか、代替的にはそれらで構成される。本発明の別の実施形態では、本発明の抗体フラグメントは、配列番号 6 3 または配列番号 6 4 のポリペプチド配列を含むか、代替的にはそれらで構成される。

【0 1 7 6】

本発明のさらなる一実施形態では、NGFとの結合特異性を有する抗体のフラグメントは、配列番号61の可変軽鎖配列の相補性決定領域（CDRまたは超可変領域）に対応する配列番号65、配列番号66および配列番号67のポリペプチド配列、または配列番号62の軽鎖配列のうちの1つ以上を含むか、代替的にはそれらで構成される。

【0177】

本発明のさらなる一実施形態では、NGFとの結合特異性を有する抗体のフラグメントは、配列番号63の可変重鎖配列の相補性決定領域（CDRまたは超可変領域）に対応する配列番号68、配列番号69および配列番号70のポリペプチド配列、または配列番号64の重鎖配列のうちの1つ以上を含むか、代替的にはそれらで構成される。

【0178】

本発明は、本明細書中に記載される抗体フラグメントのうちの1つ以上を包含する抗体フラグメントも意図する。本発明の一実施形態では、NGFとの結合特異性を有する抗体のフラグメントは、以下の抗体フラグメントのすべてを含めて、1、2、3またはそれ以上を含むか、代替的にはそれらで構成される：配列番号61の可変軽鎖領域；配列番号63の可変重鎖領域；配列番号61の可変軽鎖領域の相補性決定領域（配列番号65、配列番号66および配列番号67）；ならびに配列番号63の可変重鎖領域の相補性決定領域（配列番号68、配列番号69および配列番号70）。

【0179】

本発明の特に好ましい一実施形態では、キメラ抗NGF抗体は、配列番号62および配列番号64を含むか、代替的にはそれらで構成され、そして本明細書中に記述される生物学的活性のうちの少なくとも1つを有するAb7である。

【0180】

本発明のさらなる特に好ましい一実施形態では、抗体フラグメントは、NGFに関する結合特異性を有するFab（フラグメント抗原結合）フラグメント、または本明細書中に記載されるMetMab様一価薬剤を含むか、代替的にはそれらで構成される。抗体Ab7に関しては、Fabフラグメントは、配列番号61の可変軽鎖配列、ならびに配列番号63の可変重鎖配列を包含する。本発明のこの実施形態は、NGFに関する結合特異性を保持しながら、上記Fabにおける配列番号61および／または配列番号63の付加、欠失および変異をさらに企図する。

【0181】

本明細書中に記載される（下記）本発明の一実施形態では、Fabフラグメントは、Ab7の酵素的消化（例えばパパイン）により産生され得る。本発明の別の実施形態では、抗NGF抗体、例えばAb7またはそのFabフラグメントは、CHO、NSOまたはHEK293細胞のような哺乳類細胞、真菌、昆虫、植物、動物または微生物系、例えば酵母細胞（例えば、二倍体酵母、例えば二倍体ピキア属）および他の酵母系統における発現により産生され得る。適切なピキア種としてはピキア・パストリス（*Pichia pastoris*）が挙げられるが、これに限定されない。

抗体Ab8

【0182】

例示的一実施形態では、本発明は、抗体Ab8またはそのフラグメント、あるいはAb8と同一のまたは重複するエピトープと結合する抗体または抗体フラグメントを、そして、単独で、または別の活性作用物質、例えばNSAIDまたはオピオイド鎮痛薬または別の生物製剤と連携して、疼痛または無痛覚症を処置するかまたは防止する場合におけるその使用を提供するが、この場合、上記の抗体または抗体フラグメントは、NGFとTrkAとの会合を、ならびにNGFとp75との会合を抑制し、および／または疼痛を抑制するかまたは防止する。一実施形態では、本発明は、NGFとの結合特異性を有し、そして下記の配列を含む可変軽鎖配列を保有するキメラまたはヒト化抗体を包含する：

【化 1 7】

DIQMTQSPSSLSASVGDRVITTCQASEDIYNLLAWYQQKPGKVPKLLIYSASTLASG
VPSRFGSGSGTDYTLTISSLQPEDVATYYCQNNYLVTITYGVAFGGGTKVEIKR

(配列番号 7 1)。

【0 1 8 3】

本発明は、N G F との結合特異性を有し、そして下記の配列を含む軽鎖配列を保有するキメラまたはヒト化抗体も包含する：

【化 1 8】

DIQMTQSPSSLSASVGDRVITTCQASEDIYNLLAWYQQKPGKVPKLLIYSASTLASG
VPSRFGSGSGTDYTLTISSLQPEDVATYYCQNNYLVTITYGVAFGGGTKVEIKRTV
AAPS VFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTE
QDSK DSTYSL SSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

(配列番号 7 2)。

【0 1 8 4】

本発明はさらに、N G F との結合特異性を有し、そして下記の配列を含む可変重鎖配列を保有するキメラまたはヒト化抗体を包含する：

【化 1 9】

QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYAMIWVRQAPGKGLE YIGYIDTDT S
A Y Y A S S V K G R F T I S R D N S K N T L Y L Q M S S L R A E D T A V Y Y C A R S Y A A Y G G Y P A T F D P
W G Q G T L V T V S S (配列番号 7 3)。

【0 1 8 5】

本発明は、N G F との結合特異性を有し、そして下記の配列を含む重鎖配列を保有するキメラまたはヒト化抗体も包含する：

【化 2 0】

QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYAMIWVRQAPGKGLE YIGYIDTDT S
A Y Y A S S V K G R F T I S R D N S K N T L Y L Q M S S L R A E D T A V Y Y C A R S Y A A Y G G Y P A T F D P
W G Q G T L V T V S S A S T K G P S V F P L A P S S K S T S G G T A A L G C L V K D Y F P E P V T V S W N S G
A L T S G V H T F P A V L Q S S G L Y S L S S V V T V P S S S L G T Q T Y I C N V N H K P S N T K V D K R V E P
K S C D K T H T C P P C A P E L L G G P S V F L F P P K P K D T L M I S R T P E V T C V V V D V S H E D P E V K
F N W Y V D G V E V H N A K T K P R E E Q Y A S T Y R V V S V L T V L H Q D W L N G K E Y K C K V S N K A
L P A P I E K T I S K A K G Q P R E P Q V Y T L P P S R E E M T K N Q V S L T C L V K G F Y P S D I A V E W E S N
G Q P E N N Y K T T P P V L D S D G S F F L Y S K L T V D K S R W Q Q G N V F S C S V M H E A L H N H Y T Q
K S L S L S P G K (配列番号 7 4)。

【0 1 8 6】

本発明はさらに、配列番号 7 1 の可変軽鎖配列の相補性決定領域（C D R または超可変領域）に対応する配列番号 7 5、配列番号 7 6 および配列番号 7 7 のポリペプチド配列、または配列番号 7 2 の軽鎖配列のうちの 1 つ以上、および／または配列番号 7 3 の可変重鎖配列の相補性決定領域（C D R または超可変領域）に対応する配列番号 7 8、配列番号 7 9 および配列番号 8 0 のポリペプチド配列、または配列番号 7 4 の重鎖配列のうちの 1 つ以上、あるいはこれらのポリペプチド配列の組合せを含む抗体を意図する。本発明の別

の実施形態では、本発明の抗体またはそのフラグメントは、上記の C D R、可変重鎖および可変軽鎖配列、ならびに重鎖および軽鎖配列のうちの（それらのすべてを含めて）1つ以上の組合せを含み、代替的にはそれらで構成される。

【0187】

本発明は、N G F との結合特性を有する抗体のフラグメントも意図する。本発明の一実施形態では、本発明の抗体フラグメントは、配列番号 7 1 または配列番号 7 2 のポリペプチド配列を含むか、代替的にはそれらで構成される。本発明の別の実施形態では、本発明の抗体フラグメントは、配列番号 7 3 または配列番号 7 4 のポリペプチド配列を含むか、代替的にはそれらで構成される。

【0188】

本発明のさらなる一実施形態では、N G F との結合特異性を有する抗体のフラグメントは、配列番号 7 1 の可変軽鎖配列の相補性決定領域（C D R または超可変領域）に対応する配列番号 7 5、配列番号 7 6 および配列番号 7 7 のポリペプチド配列、または配列番号 7 2 の軽鎖配列のうちの 1 つ以上を含むか、代替的にはそれらで構成される。

【0189】

本発明のさらなる一実施形態では、N G F との結合特異性を有する抗体のフラグメントは、配列番号 7 3 の可変重鎖配列の相補性決定領域（C D R または超可変領域）に対応する配列番号 7 8、配列番号 7 9 および配列番号 8 0 のポリペプチド配列、または配列番号 7 4 の重鎖配列のうちの 1 つ以上を含むか、代替的にはそれらで構成される。

【0190】

本発明は、本明細書中に記載される抗体フラグメントのうちの 1 つ以上を包含する抗体フラグメントも意図する。本発明の一実施形態では、N G F との結合特異性を有する抗体のフラグメントは、以下の抗体フラグメントのすべてを含めて、1、2、3 またはそれ以上を含むか、代替的にはそれらで構成される：配列番号 7 1 の可変軽鎖領域；配列番号 7 3 の可変重鎖領域；配列番号 7 1 の可変軽鎖領域の相補性決定領域（配列番号 7 5、配列番号 7 6 および配列番号 7 7）；ならびに配列番号 7 3 の可変重鎖領域の相補性決定領域（配列番号 7 8、配列番号 7 9 および配列番号 8 0）。

【0191】

本発明の特に好ましい一実施形態では、キメラまたはヒト化抗 N G F 抗体は、配列番号 7 2 および配列番号 7 4 を含むか、代替的にはそれらで構成され、そして本明細書中に記

【0192】

本発明のさらなる特に好ましい一実施形態では、抗体フラグメントは、N G F に関する結合特異性を有する F a b（フラグメント抗原結合）フラグメント、または本明細書中に記載される M e t M a b 様一価薬剤を含むか、代替的にはそれらで構成される。抗体 A b 8 に関しては、F a b フラグメントは、配列番号 7 1 の可変軽鎖配列、ならびに配列番号 7 3 の可変重鎖配列を包含する。本発明のこの実施形態は、N G F に関する結合特異性を保持しながら、上記 F a b における配列番号 7 1 および／または配列番号 7 3 の付加、欠失および変異をさらに企図する。

【0193】

本明細書中に記載される（下記）本発明の一実施形態では、F a b フラグメントは、A b 8 の酵素的消化（例えばパパイン）により産生され得る。本発明の別の実施形態では、抗 N G F 抗体、例えば A b 8 またはその F a b フラグメントは、C H O、N S O または H E K 2 9 3 細胞のような哺乳類細胞、真菌、昆虫、植物、動物または微生物系、例えば細菌または酵母細胞（例えば、二倍体酵母、例えば二倍体ピキア属）および他の酵母系統における発現により産生され得る。適切なピキア種としてはピキア・パストリス（P i c h i a p a s t o r i s）が挙げられるが、これに限定されない。

抗体 A b 9

【0194】

例示的一実施形態では、本発明は、抗体 A b 9 またはそのフラグメント、あるいは A b

10

20

30

40

50

9 と同一のまたは重複するエピトープと結合する抗体または抗体フラグメントを、そして、単独で、または別の活性作用物質、例えば N S A I D またはオピオイド鎮痛薬または別の生物製剤と連携して、疼痛または無痛覚症を処置するかまたは防止する場合におけるその使用を提供するが、この場合、上記の抗体または抗体フラグメントは、N G F と T r k A との会合を、ならびに N G F と p 7 5 との会合を抑制し、および／または疼痛を抑制するかまたは防止する。一実施形態では、本発明は、N G F との結合特異性を有し、そして下記の配列を含む可変軽鎖配列を保有するキメラ抗体を包含する：

【化 2 1】

AYDMTQTPASVSAAVGGTVTIKCQASENIGSYLAWYQQKPGQPPELLIYRASTLAS
GVPSRFKGS GSGTQFTLTISGVECADAAATYYCQQGYNSENLDNAFGGGTEVVVKR

10

(配列番号 8 1)。

【0 1 9 5】

本発明は、N G F との結合特異性を有し、そして下記の配列を含む軽鎖配列を保有するキメラまたはヒト化抗体も包含する：

【化 2 2】

AYDMTQTPASVSAAVGGTVTIKCQASENIGSYLAWYQQKPGQPPELLIYRASTLAS
GVPSRFKGS GSGTQFTLTISGVECADAAATYYCQQGYNSENLDNAFGGGTEVVVKR
TVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESV
TEQDSKDSSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

20

(配列番号 8 2)。

【0 1 9 6】

本発明はさらに、N G F との結合特異性を有し、そして下記の配列を含む可変重鎖配列を保有するキメラ抗体を包含する：

【化 2 3】

QSVEESGGRLVTPGTPLTLTCTVSGIDLSMYSMGWVRQAPGKGLEIYIGWISYGGT
AYYASWAKGRFTISKSTTTVELKITSPTIEDTATYFCARETPVNYYLDIWGQGTLVT
VSS (配列番号 8 3)。

30

【0 1 9 7】

本発明は、N G F との結合特異性を有し、そして下記の配列を含む重鎖配列を保有するキメラ抗体も包含する：

【化 2 4】

QSVEESGGRLVTPGTPLTLTCTVSGIDLSMYSMGWVRQAPGKGLEIYIGWISYGGT
AYYASWAKGRFTISKSTTTVELKITSPTIEDTATYFCARETPVNYYLDIWGQGTLVT
VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF
PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTC
PPCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGV
EVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS
KAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK
TTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
(配列番号 8 4)。

40

【0 1 9 8】

50

本発明はさらに、配列番号 8 1 の可変軽鎖配列の相補性決定領域（C D R または超可変領域）に対応する配列番号 8 5、配列番号 8 6 および配列番号 8 7 のポリペプチド配列、または配列番号 8 2 の軽鎖配列のうちの 1 つ以上、および／または配列番号 8 3 の可変重鎖配列の相補性決定領域（C D R または超可変領域）に対応する配列番号 8 8、配列番号 8 9 および配列番号 9 0 のポリペプチド配列、または配列番号 8 4 の重鎖配列のうちの 1 つ以上、あるいはこれらのポリペプチド配列の組合せを含む抗体を意図する。本発明の別の実施形態では、本発明の抗体またはそのフラグメントは、上記の C D R、可変重鎖および可変軽鎖配列、ならびに重鎖および軽鎖配列のうちの（それらのすべてを含めて）1 つ以上の組合せを含み、代替的にはそれらで構成される。

【0199】

本発明は、N G F との結合特性を有する抗体のフラグメントも意図する。本発明の一実施形態では、本発明の抗体フラグメントは、配列番号 8 1 または配列番号 8 2 のポリペプチド配列を含むか、代替的にはそれらで構成される。本発明の別の実施形態では、本発明の抗体フラグメントは、配列番号 8 3 または配列番号 8 4 のポリペプチド配列を含むか、代替的にはそれらで構成される。

【0200】

本発明のさらなる一実施形態では、N G F との結合特異性を有する抗体のフラグメントは、配列番号 8 1 の可変軽鎖配列の相補性決定領域（C D R または超可変領域）に対応する配列番号 8 5、配列番号 8 6 および配列番号 8 7 のポリペプチド配列、または配列番号 8 2 の軽鎖配列のうちの 1 つ以上を含むか、代替的にはそれらで構成される。

【0201】

本発明のさらなる一実施形態では、N G F との結合特異性を有する抗体のフラグメントは、配列番号 8 3 の可変重鎖配列の相補性決定領域（C D R または超可変領域）に対応する配列番号 8 8、配列番号 8 9 および配列番号 9 0 のポリペプチド配列、または配列番号 8 4 の重鎖配列のうちの 1 つ以上を含むか、代替的にはそれらで構成される。

【0202】

本発明は、本明細書中に記載される抗体フラグメントのうちの 1 つ以上を包含する抗体フラグメントも意図する。本発明の一実施形態では、N G F との結合特異性を有する抗体のフラグメントは、以下の抗体フラグメントのすべてを含めて、1、2、3 またはそれ以上を含むか、代替的にはそれらで構成される：配列番号 8 1 の可変軽鎖領域；配列番号 8 3 の可変重鎖領域；配列番号 8 1 の可変軽鎖領域の相補性決定領域（配列番号 8 5、配列番号 8 6 および配列番号 8 7）；ならびに配列番号 8 3 の可変重鎖領域の相補性決定領域（配列番号 8 8、配列番号 8 9 および配列番号 9 0）。

【0203】

本発明の特に好ましい一実施形態では、キメラ抗 N G F 抗体は、配列番号 8 2 および配列番号 8 4 を含むか、代替的にはそれらで構成され、そして本明細書中に記述される生物学的活性のうちの少なくとも 1 つを有する A b 9 である。

【0204】

本発明のさらなる特に好ましい一実施形態では、抗体フラグメントは、N G F に関する結合特異性を有する F a b（フラグメント抗原結合）フラグメント、または本明細書中に記載される M e t M a b 様一価薬剤を含むか、代替的にはそれらで構成される。抗体 A b 9 に関しては、F a b フラグメントは、配列番号 8 1 の可変軽鎖配列、ならびに配列番号 8 3 の可変重鎖配列を包含する。本発明のこの実施形態は、N G F に関する結合特異性を保持しながら、上記 F a b における配列番号 8 1 および／または配列番号 8 3 の付加、欠失および変異をさらに企図する。

【0205】

本明細書中に記載される（下記）本発明の一実施形態では、F a b フラグメントは、A b 9 の酵素的消化（例えばパパイン）により産生され得る。本発明の別の実施形態では、抗 N G F 抗体、例えば A b 9 またはその F a b フラグメントは、C H O、N S O または H E K 2 9 3 細胞のような哺乳類細胞、真菌、昆虫、植物、動物または微生物系、例えば細

10

20

30

40

50

菌または酵母細胞（例えば、二倍体酵母、例えば二倍体ピキア属）および他の酵母系統における発現により産生され得る。適切なピキア種としてはピキア・パストリス（*Pichia pastoris*）が挙げられるが、これに限定されない。

抗体A b 1 0

【0206】

例示的一実施形態では、本発明は、抗体A b 1 0またはそのフラグメント、あるいはA b 1 0と同一のまたは重複するエピトープと結合する抗体または抗体フラグメントを、そして、単独で、または別の活性作用物質、例えばNSAIDまたはオピオイド鎮痛薬または別の生物製剤と連携して、疼痛または無痛覚症を処置するかまたは防止する場合におけるその使用を提供するが、この場合、上記の抗体または抗体フラグメントは、NGFとTrkAとの会合を、ならびにNGFとp75との会合を抑制し、および／または疼痛を抑制するかまたは防止する。一実施形態では、本発明は、NGFとの結合特異性を有し、そして下記の配列を含む可変軽鎖配列を保有するキメラまたはヒト化抗体を包含する：

【化25】

AYDMTQSPSSLSASVGDRVITITCQASENIGSYLAWYQQKPGKVPKLLIYRASTLAS
GVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDVATYYCQQGYNSENLDNAFGGGTKVEIKR

（配列番号91）。

【0207】

本発明は、NGFとの結合特異性を有し、そして下記の配列を含む軽鎖配列を保有するキメラまたはヒト化抗体も包含する：

【化26】

AYDMTQSPSSLSASVGDRVITITCQASENIGSYLAWYQQKPGKVPKLLIYRASTLAS
GVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDVATYYCQQGYNSENLDNAFGGGTKVEIKRT
VAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVT
EQDSKIDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

（配列番号92）。

【0208】

本発明はさらに、NGFとの結合特異性を有し、そして下記の配列を含む可変重鎖配列を保有するキメラまたはヒト化抗体を包含する：

【化27】

QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSMYSMGWVRQAPGKGLYIGWISYG
GTAYYASSAKGRFTISRDN SKNTLYLQMSSLRAEDTAVYYCARETPVNYL DIWG
QGTLVTVSS（配列番号93）。

【0209】

本発明は、NGFとの結合特異性を有し、そして下記の配列を含む重鎖配列を保有するキメラまたはヒト化抗体も包含する：

【化 2 8】

QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSMYSMGWVRQAPGKGLEIYIGWISYG
GTAYYASSAKGRFTISRDN SKNTLYLQMSSLRAEDTAVYYCARETPVNYLDIWG
QGT LVT VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALT
SGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSC
DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFN
WYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP
APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG
QPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYTQK
SLSLSPGK (配列番号 9 4)。

10

【0 2 1 0】

本発明はさらに、配列番号 9 1 の可変軽鎖配列の相補性決定領域 (C D R または超可変領域) に対応する配列番号 9 5、配列番号 9 6 および配列番号 9 7 のポリペプチド配列、または配列番号 9 2 の軽鎖配列のうちの 1 つ以上、および / または配列番号 9 3 の可変重鎖配列の相補性決定領域 (C D R または超可変領域) に対応する配列番号 9 8、配列番号 9 9 および配列番号 1 0 0 のポリペプチド配列、または配列番号 9 4 の重鎖配列のうちの 1 つ以上、あるいはこれらのポリペプチド配列の組合せを含む抗体を意図する。本発明の別の実施形態では、本発明の抗体またはそのフラグメントは、上記の C D R、可変重鎖および可変軽鎖配列、ならびに重鎖および軽鎖配列のうちの (それらのすべてを含めて) 1 つ以上の組合せを含み、代替的にはそれらで構成される。

20

【0 2 1 1】

本発明は、N G F との結合特性を有する抗体のフラグメントも意図する。本発明の一実施形態では、本発明の抗体フラグメントは、配列番号 9 1 または配列番号 9 2 のポリペプチド配列を含むか、代替的にはそれらで構成される。本発明の別の実施形態では、本発明の抗体フラグメントは、配列番号 9 3 または配列番号 9 4 のポリペプチド配列を含むか、代替的にはそれらで構成される。

30

【0 2 1 2】

本発明のさらなる一実施形態では、N G F との結合特異性を有する抗体のフラグメントは、配列番号 9 1 の可変軽鎖配列の相補性決定領域 (C D R または超可変領域) に対応する配列番号 9 5、配列番号 9 6 および配列番号 9 7 のポリペプチド配列、または配列番号 9 2 の軽鎖配列のうちの 1 つ以上を含むか、代替的にはそれらで構成される。

【0 2 1 3】

本発明のさらなる一実施形態では、N G F との結合特異性を有する抗体のフラグメントは、配列番号 9 3 の可変重鎖配列の相補性決定領域 (C D R または超可変領域) に対応する配列番号 9 8、配列番号 9 9 および配列番号 1 0 0 のポリペプチド配列、または配列番号 9 4 の重鎖配列のうちの 1 つ以上を含むか、代替的にはそれらで構成される。

40

【0 2 1 4】

本発明は、本明細書中に記載される抗体フラグメントのうちの 1 つ以上を包含する抗体フラグメントも意図する。本発明の一実施形態では、N G F との結合特異性を有する抗体のフラグメントは、以下の抗体フラグメントのすべてを含めて、1、2、3 またはそれ以上を含むか、代替的にはそれらで構成される：配列番号 9 1 の可変軽鎖領域；配列番号 9 3 の可変重鎖領域；配列番号 9 1 の可変軽鎖領域の相補性決定領域 (配列番号 9 5、配列番号 9 6 および配列番号 9 7)；ならびに配列番号 9 3 の可変重鎖領域の相補性決定領域 (配列番号 9 8、配列番号 9 9 および配列番号 1 0 0)。

【0 2 1 5】

50

本発明の特に好ましい一実施形態では、キメラまたはヒト化抗NGF抗体は、配列番号92および配列番号94を含むか、代替的にはそれらで構成され、そして本明細書中に記述される生物学的活性のうちの少なくとも1つを有するAb10である。

【0216】

本発明のさらなる特に好ましい一実施形態では、抗体フラグメントは、NGFに関する結合特異性を有するFab（フラグメント抗原結合）フラグメント、または本明細書中に記載されるMetMab様一価薬剤を含むか、代替的にはそれらで構成される。抗体Ab10に関しては、Fabフラグメントは、配列番号91の可変軽鎖配列、ならびに配列番号93の可変重鎖配列を包含する。本発明のこの実施形態は、NGFに関する結合特異性を保持しながら、上記Fabにおける配列番号91および／または配列番号93の付加、欠失および変異をさらに企図する。

10

【0217】

本明細書中に記載される（下記）本発明の一実施形態では、Fabフラグメントは、Ab10の酵素的消化（例えばパパイン）により産生され得る。本発明の別の実施形態では、抗NGF抗体、例えばAb10またはそのFabフラグメントは、CHO、NSOまたはHEK293細胞のような哺乳類細胞、真菌、昆虫、植物、動物または微生物系、例えば細菌または酵母細胞（例えば、二倍体酵母、例えば二倍体ピキア属）および他の酵母系統における発現により産生され得る。適切なピキア種としてはピキア・パストリス（*Pichia pastoris*）が挙げられるが、これに限定されない。

抗体Ab11

20

【0218】

例示的一実施形態では、本発明は、抗体Ab11またはそのフラグメント、あるいはAb11と同一のまたは重複するエピトープと結合する抗体または抗体フラグメントを、そして、単独で、または別の活性作用物質、例えばNSAIDまたはオピオイド鎮痛薬または別の生物製剤と連携して、疼痛または無痛覚症を処置するかまたは防止する場合におけるその使用を提供するが、この場合、上記の抗体または抗体フラグメントは、NGFとTrkAとの会合を、ならびにNGFとp75との会合を抑制し、および／または疼痛を抑制するかまたは防止する。一実施形態では、本発明は、NGFとの結合特異性を有し、そして下記の配列を含む可変軽鎖配列を保有するキメラ抗体を包含する：

【化29】

30

AFELTQTPSSVEAAVGGTVTIKCQASQNIVTNLAWYQQKPGQPPKLLIYGASTLAS
GVSSRFKGS GSGTQFTLTISDLECAATAFYFCQSYDGFNSAGFGGGTEVVVKR

（配列番号101）。

【0219】

本発明は、NGFとの結合特異性を有し、そして下記の配列を含む軽鎖配列を保有するキメラ抗体も包含する：

【化30】

AFELTQTPSSVEAAVGGTVTIKCQASQNIVTNLAWYQQKPGQPPKLLIYGASTLAS
GVSSRFKGS GSGTQFTLTISDLECAATAFYFCQSYDGFNSAGFGGGTEVVVKRTV
AAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTE
QDSKDSSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

40

（配列番号102）。

【0220】

本発明はさらに、NGFとの結合特異性を有し、そして下記の配列を含む可変重鎖配列を保有するキメラ抗体を包含する：

【化 3 1】

QSLEESGGRLVTPGTPLTLTCTASGFSLSGYDMSWVRQAPGKGLEYIGLISYDGNT
YYATWAKGRFTISKSTSTTVDLKITSPTTEDTATYFCARSLYAGPNAGIGPFNIWGQ
GTLVTVSS (配列番号 1 0 3)。

【0 2 2 1】

本発明は、NGFとの結合特異性を有し、そして下記の配列を含む重鎖配列を保有するキメラ抗体も包含する：

【化 3 2】

QSLEESGGRLVTPGTPLTLTCTASGFSLSGYDMSWVRQAPGKGLEYIGLISYDGNT
YYATWAKGRFTISKSTSTTVDLKITSPTTEDTATYFCARSLYAGPNAGIGPFNIWGQ
GTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS
GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCD
KTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNW
YVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA
PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP
ENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLS
LSPGK (配列番号 1 0 4)。

【0 2 2 2】

本発明はさらに、配列番号 1 0 1 の可変軽鎖配列の相補性決定領域 (CDR または超可変領域) に対応する配列番号 1 0 5、配列番号 1 0 6 および配列番号 1 0 7 のポリペプチド配列、または配列番号 1 0 2 の軽鎖配列のうちの 1 つ以上、および／または配列番号 1 0 3 の可変重鎖配列の相補性決定領域 (CDR または超可変領域) に対応する配列番号 1 0 8、配列番号 1 0 9 および配列番号 1 1 0 のポリペプチド配列、または配列番号 1 0 4 の重鎖配列のうちの 1 つ以上、あるいはこれらのポリペプチド配列の組合せを含む抗体を意図する。本発明の別の実施形態では、本発明の抗体またはそのフラグメントは、上記の CDR、可変重鎖および可変軽鎖配列、ならびに重鎖および軽鎖配列のうちの (それらのすべてを含めて) 1 つ以上の組合せを含み、代替的にはそれらで構成される。

【0 2 2 3】

本発明は、NGFとの結合特性を有する抗体のフラグメントも意図する。本発明の一実施形態では、本発明の抗体フラグメントは、配列番号 1 0 1 または配列番号 1 0 2 のポリペプチド配列を含むか、代替的にはそれらで構成される。本発明の別の実施形態では、本発明の抗体フラグメントは、配列番号 1 0 3 または配列番号 1 0 4 のポリペプチド配列を含むか、代替的にはそれらで構成される。

【0 2 2 4】

本発明のさらなる一実施形態では、NGFとの結合特異性を有する抗体のフラグメントは、配列番号 1 0 1 の可変軽鎖配列の相補性決定領域 (CDR または超可変領域) に対応する配列番号 1 0 5、配列番号 1 0 6 および配列番号 1 0 7 のポリペプチド配列、または配列番号 1 0 2 の軽鎖配列のうちの 1 つ以上を含むか、代替的にはそれらで構成される。

【0 2 2 5】

本発明のさらなる一実施形態では、NGFとの結合特異性を有する抗体のフラグメントは、配列番号 1 0 3 の可変重鎖配列の相補性決定領域 (CDR または超可変領域) に対応する配列番号 1 0 8、配列番号 1 0 9 および配列番号 1 1 0 のポリペプチド配列、または配列番号 1 0 4 の重鎖配列のうちの 1 つ以上を含むか、代替的にはそれらで構成される。

【0226】

本発明は、本明細書中に記載される抗体フラグメントのうちの1つ以上を包含する抗体フラグメントも意図する。本発明の一実施形態では、NGFとの結合特異性を有する抗体のフラグメントは、以下の抗体フラグメントのすべてを含めて、1、2、3またはそれ以上を含むか、代替的にはそれらで構成される：配列番号101の可変軽鎖領域；配列番号103の可変重鎖領域；配列番号101の可変軽鎖領域の相補性決定領域（配列番号105、配列番号106および配列番号107）；ならびに配列番号103の可変重鎖領域の相補性決定領域（配列番号108、配列番号109および配列番号110）。

【0227】

本発明の特に好ましい一実施形態では、キメラ抗NGF抗体は、配列番号102および配列番号104を含むか、代替的にはそれらで構成され、そして本明細書中に記述される生物学的活性のうちの少なくとも1つを有するAb11である。

10

【0228】

本発明のさらなる特に好ましい一実施形態では、抗体フラグメントは、NGFに関する結合特異性を有するFab（フラグメント抗原結合）フラグメント、または本明細書中に記載されるMetMab様一価薬剤を含むか、代替的にはそれらで構成される。抗体Ab11に関しては、Fabフラグメントは、配列番号101の可変軽鎖配列、ならびに配列番号103の可変重鎖配列を包含する。本発明のこの実施形態は、NGFに関する結合特異性を保持しながら、上記Fabにおける配列番号101および／または配列番号103の付加、欠失および変異をさらに企図する。

20

【0229】

本明細書中に記載される（下記）本発明の一実施形態では、Fabフラグメントは、Ab11の酵素的消化（例えばパペイン）により産生され得る。本発明の別の実施形態では、抗NGF抗体、例えばAb11またはそのFabフラグメントは、CHO、NSOまたはHEK293細胞のような哺乳類細胞、真菌、昆虫、植物、動物または微生物系、例えば酵母細胞（例えば、二倍体酵母、例えば二倍体ピキア属）および他の酵母系統における発現により産生され得る。適切なピキア種としてはピキア・パストリス（*Pichia pastoris*）が挙げられるが、これに限定されない。

抗体Ab12

【0230】

30

例示的一実施形態では、本発明は、抗体Ab12またはそのフラグメント、あるいはAb12と同一のまたは重複するエピトープと結合する抗体または抗体フラグメントを、そして、単独で、または別の活性作用物質、例えばNSAIDまたはオピオイド鎮痛薬または別の生物製剤と連携して、疼痛または無痛覚症を処置するかまたは防止する場合におけるその使用を提供するが、この場合、上記の抗体または抗体フラグメントは、NGFとTrkAとの会合を、ならびにNGFとp75との会合を抑制し、および／または疼痛を抑制するかまたは防止する。一実施形態では、本発明は、NGFとの結合特異性を有し、そして下記の配列を含む可変軽鎖配列を保有するキメラまたはヒト化抗体を包含する：

【化33】

AFQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQNIVTNLAWYQQKPGKVPKLLIYGASTLAS

40

GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYYCQSYDGFNSAGFGGGTKVEIKR

（配列番111）。

【0231】

本発明は、NGFとの結合特異性を有し、そして下記の配列を含む軽鎖配列を保有するキメラまたはヒト化抗体も包含する：

【化 3 4】

AFQMTQSPSSLSASVGDRVITTCQASQNIVTNLAWYQQKPGKVPKLLIYGASTLAS
GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYYCQSYDGFNSAGFGGGTKVEIKRTVA
APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQ
DSKDSTYLSSTLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

(配列番号 1 1 2)。

【0 2 3 2】

10

本発明はさらに、NGFとの結合特異性を有し、そして下記の配列を含む可変重鎖配列を保有するキメラまたはヒト化抗体を包含する：

【化 3 5】

QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFSLSGYDMSWVRQAPGKGLEWVGLISYD
GNTYYATSAKGRFTISRDN SKNTLYLQMSSLRAEDTAVYYCARS LYAGPNAGIGP
FNIWGQGTLVTVSS (配列番号 1 1 3)。

【0 2 3 3】

本発明は、NGFとの結合特異性を有し、そして下記の配列を含む重鎖配列を保有するキメラまたはヒト化抗体も包含する：

20

【化 3 6】

QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFSLSGYDMSWVRQAPGKGLEWVGLISYD
GNTYYATSAKGRFTISRDN SKNTLYLQMSSLRAEDTAVYYCARS LYAGPNAGIGP
FNIWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN
SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRV
EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE
VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN
KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE
SNGQPENNYKTTTPVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHY
TQKSLSLSPGK (配列番号 1 1 4)。

30

【0 2 3 4】

本発明はさらに、配列番号 1 1 1 の可変軽鎖配列の相補性決定領域 (CDR または超可変領域) に対応する配列番号 1 1 5、配列番号 1 1 6 および配列番号 1 1 7 のポリペプチド配列、または配列番号 1 1 2 の軽鎖配列のうちの 1 つ以上、および／または配列番号 1 1 3 の可変重鎖配列の相補性決定領域 (CDR または超可変領域) に対応する配列番号 1 1 8、配列番号 1 1 9 および配列番号 1 2 0 のポリペプチド配列、または配列番号 1 1 4 の重鎖配列のうちの 1 つ以上、あるいはこれらのポリペプチド配列の組合せを含む抗体を意図する。本発明の別の実施形態では、本発明の抗体またはそのフラグメントは、上記の CDR、可変重鎖および可変軽鎖配列、ならびに重鎖および軽鎖配列のうちの (それらのすべてを含めて) 1 つ以上の組合せを含み、代替的にはそれらで構成される。

40

【0 2 3 5】

本発明は、NGFとの結合特性を有する抗体のフラグメントも意図する。本発明の一実施形態では、本発明の抗体フラグメントは、配列番号 1 1 1 または配列番号 1 1 2 のポリペプチド配列を含むか、代替的にはそれらで構成される。本発明の別の実施形態では、本

50

発明の抗体フラグメントは、配列番号 1 1 3 または配列番号 1 1 4 のポリペプチド配列を含むか、代替的にはそれらで構成される。

【0 2 3 6】

本発明のさらなる一実施形態では、NGFとの結合特異性を有する抗体のフラグメントは、配列番号 1 1 1 の可変軽鎖配列の相補性決定領域（CDRまたは超可変領域）に対応する配列番号 1 1 5、配列番号 1 1 6 および配列番号 1 1 7 のポリペプチド配列、または配列番号 1 1 2 の軽鎖配列のうちの 1 つ以上を含むか、代替的にはそれらで構成される。

【0 2 3 7】

本発明のさらなる一実施形態では、NGFとの結合特異性を有する抗体のフラグメントは、配列番号 1 1 3 の可変重鎖配列の相補性決定領域（CDRまたは超可変領域）に対応する配列番号 1 1 8、配列番号 1 1 9 および配列番号 1 2 0 のポリペプチド配列、または配列番号 1 1 4 の重鎖配列のうちの 1 つ以上を含むか、代替的にはそれらで構成される。

【0 2 3 8】

本発明は、本明細書中に記載される抗体フラグメントのうちの 1 つ以上を包含する抗体フラグメントも意図する。本発明の一実施形態では、NGFとの結合特異性を有する抗体のフラグメントは、以下の抗体フラグメントのすべてを含めて、1、2、3 またはそれ以上を含むか、代替的にはそれらで構成される：配列番号 1 1 1 の可変軽鎖領域；配列番号 1 1 3 の可変重鎖領域；配列番号 1 1 1 の可変軽鎖領域の相補性決定領域（配列番号 1 1 5、配列番号 1 1 6 および配列番号 1 1 7）；ならびに配列番号 1 1 3 の可変重鎖領域の相補性決定領域（配列番号 1 1 8、配列番号 1 1 9 および配列番号 1 2 0）。

【0 2 3 9】

本発明の特に好ましい一実施形態では、キメラまたはヒト化抗NGF抗体は、配列番号 1 1 2 および配列番号 1 1 4 を含むか、代替的にはそれらで構成され、そして本明細書中に記述される生物学的活性のうちの少なくとも 1 つを有するAb12である。

【0 2 4 0】

本発明のさらなる特に好ましい一実施形態では、抗体フラグメントは、NGFに関する結合特異性を有するFab（フラグメント抗原結合）フラグメント、または本明細書中に記載されるMetMab様一価薬剤を含むか、代替的にはそれらで構成される。抗体Ab12に関しては、Fabフラグメントは、配列番号 1 1 1 の可変軽鎖配列、ならびに配列番号 1 1 3 の可変重鎖配列を包含する。本発明のこの実施形態は、NGFに関する結合特異性を保持しながら、上記Fabにおける配列番号 1 1 1 および／または配列番号 1 1 3 の付加、欠失および変異をさらに企図する。

【0 2 4 1】

本明細書中に記載される（下記）本発明の一実施形態では、Fabフラグメントは、Ab12の酵素的消化（例えばパパイン）により産生され得る。本発明の別の実施形態では、抗NGF抗体、例えばAb12またはそのFabフラグメントは、CHO、NSOまたはHEK293細胞のような哺乳類細胞、真菌、昆虫、植物、動物または微生物系、例えば細菌または酵母細胞（例えば、二倍体酵母、例えば二倍体ピキア属）および他の酵母系統における発現により産生され得る。適切なピキア種としてはピキア・パストリス（*Pichia pastoris*）が挙げられるが、これに限定されない。

抗体Ab13

【0 2 4 2】

例示的一実施形態では、本発明は、抗体Ab13またはそのフラグメント、あるいはAb13と同一のまたは重複するエピトープと結合する抗体または抗体フラグメントを、そして、単独で、または別の活性作用物質、例えばNSAIDまたはオピオイド鎮痛薬または別の生物製剤と連携して、疼痛または無痛覚症を処置するかまたは防止する場合におけるその使用を提供するが、この場合、上記の抗体または抗体フラグメントは、NGFとTrkAとの会合を、ならびにNGFとp75との会合を抑制し、および／または疼痛を抑制するかまたは防止する。一実施形態では、本発明は、NGFとの結合特異性を有し、そして下記の配列を含む可変軽鎖配列を保有するキメラ抗体を包含する：

【化 3 7】

AAVLTQTPSPVSAAVGGTVSISCQSSQNVYKNNYLSWYQQKPGQPPKLLIYKASTL
ASGVPSRFKGGGSGTDFTLTISDVQCDAATYYCAGGYTSSSDNAFGGGTEVVVK
R (配列番号 1 2 1)。

【0 2 4 3】

本発明は、NGFとの結合特異性を有し、そして下記の配列を含む軽鎖配列を保有するキメラ抗体も包含する：

【化 3 8】

AAVLTQTPSPVSAAVGGTVSISCQSSQNVYKNNYLSWYQQKPGQPPKLLIYKASTL
ASGVPSRFKGGGSGTDFTLTISDVQCDAATYYCAGGYTSSSDNAFGGGTEVVVK
RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNFPREAKVQWKVDNALQSGNSQES
VTEQDSKDYSTYLSSTLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
(配列番号 1 2 2)。

【0 2 4 4】

本発明はさらに、NGFとの結合特異性を有し、そして下記の配列を含む可変重鎖配列を保有するキメラ抗体を包含する：

【化 3 9】

QSVEASGGRLVTPGTPLTLTCTASGFSLSTYWMSWVRQAPGKGLEWIGDIYFSNEE
TNYASWAKGRFTISKSTTTVDLNVISPTTEDTATYFCARGSPDVIDIGIDMWGPGTL
VTVSS (配列番号 1 2 3)。

【0 2 4 5】

本発明は、NGFとの結合特異性を有し、そして下記の配列を含む重鎖配列を保有するキメラ抗体も包含する：

【化 4 0】

QSVEASGGRLVTPGTPLTLTCTASGFSLSTYWMSWVRQAPGKGLEWIGDIYFSNEE
TNYASWAKGRFTISKSTTTVDLNVISPTTEDTATYFCARGSPDVIDIGIDMWGPGTL
VTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH
TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTH
TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD
GVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK
TISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENN
YKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQSVSMHEALHNHYTQKSLSLSP
GK (配列番号 1 2 4)。

【0 2 4 6】

本発明はさらに、配列番号 1 2 1 の可変軽鎖配列の相補性決定領域 (CDR または超可変領域) に対応する配列番号 1 2 5、配列番号 1 2 6 および配列番号 1 2 7 のポリペプチド配列、または配列番号 1 2 2 の軽鎖配列のうちの 1 つ以上、および／または配列番号 1 2 3 の可変重鎖配列の相補性決定領域 (CDR または超可変領域) に対応する配列番号 1 2 8、配列番号 1 2 9 および配列番号 1 3 0 のポリペプチド配列、または配列番号 1 2 4

10

20

30

40

50

の重鎖配列のうちの1つ以上、あるいはこれらのポリペプチド配列の組合せを含む抗体を意図する。本発明の別の実施形態では、本発明の抗体またはそのフラグメントは、上記のCDR、可変重鎖および可変軽鎖配列、ならびに重鎖および軽鎖配列のうちの（それらのすべてを含めて）1つ以上の組合せを含み、代替的にはそれらで構成される。

【0247】

本発明は、NGFとの結合特性を有する抗体のフラグメントも意図する。本発明の一実施形態では、本発明の抗体フラグメントは、配列番号121または配列番号122のポリペプチド配列を含むか、代替的にはそれらで構成される。本発明の別の実施形態では、本発明の抗体フラグメントは、配列番号123または配列番号124のポリペプチド配列を含むか、代替的にはそれらで構成される。

10

【0248】

本発明のさらなる一実施形態では、NGFとの結合特異性を有する抗体のフラグメントは、配列番号121の可変軽鎖配列の相補性決定領域（CDRまたは超可変領域）に対応する配列番号125、配列番号126および配列番号127のポリペプチド配列、または配列番号122の軽鎖配列のうちの1つ以上を含むか、代替的にはそれらで構成される。

【0249】

本発明のさらなる一実施形態では、NGFとの結合特異性を有する抗体のフラグメントは、配列番号123の可変重鎖配列の相補性決定領域（CDRまたは超可変領域）に対応する配列番号128、配列番号129および配列番号130のポリペプチド配列、または配列番号124の重鎖配列のうちの1つ以上を含むか、代替的にはそれらで構成される。

20

【0250】

本発明は、本明細書中に記載される抗体フラグメントのうちの1つ以上を包含する抗体フラグメントも意図する。本発明の一実施形態では、NGFとの結合特異性を有する抗体のフラグメントは、以下の抗体フラグメントのすべてを含めて、1、2、3またはそれ以上を含むか、代替的にはそれらで構成される：配列番号121の可変軽鎖領域；配列番号123の可変重鎖領域；配列番号121の可変軽鎖領域の相補性決定領域（配列番号125、配列番号126および配列番号127）；ならびに配列番号123の可変重鎖領域の相補性決定領域（配列番号128、配列番号129および配列番号130）。

【0251】

本発明の特に好ましい一実施形態では、キメラ抗NGF抗体は、配列番号122および配列番号124を含むか、代替的にはそれらで構成され、そして本明細書中に記述される生物学的活性のうちの少なくとも1つを有するAb13である。

30

【0252】

本発明のさらなる特に好ましい一実施形態では、抗体フラグメントは、NGFに関する結合特異性を有するFab（フラグメント抗原結合）フラグメント、または本明細書中に記載されるMetMab様一価薬剤を含むか、代替的にはそれらで構成される。抗体Ab13に関しては、Fabフラグメントは、配列番号121の可変軽鎖配列、ならびに配列番号123の可変重鎖配列を包含する。本発明のこの実施形態は、NGFに関する結合特異性を保持しながら、上記Fabにおける配列番号121および／または配列番号123の付加、欠失および変異をさらに企図する。

40

【0253】

本明細書中に記載される（下記）本発明の一実施形態では、Fabフラグメントは、Ab13の酵素的消化（例えばパパイン）により産生され得る。本発明の別の実施形態では、抗NGF抗体、例えばAb13またはそのFabフラグメントは、CHO、NSOまたはHEK293細胞のような哺乳類細胞、真菌、昆虫、植物、動物または微生物系、例えば細菌または酵母細胞（例えば、二倍体酵母、例えば二倍体ピキア属）および他の酵母系統における発現により産生され得る。適切なピキア種としてはピキア・パストリス（*Pichia pastoris*）が挙げられるが、これに限定されない。

抗体Ab14

【0254】

50

例示的一実施形態では、本発明は、抗体A b 1 4またはそのフラグメント、あるいはA b 1 4と同一のまたは重複するエピトープと結合する抗体または抗体フラグメントを、そして、単独で、または別の活性作用物質、例えばN S A I Dまたはオピオイド鎮痛薬または別の生物製剤と連携して、疼痛または無痛覚症を処置するかまたは防止する場合におけるその使用を提供するが、この場合、上記の抗体または抗体フラグメントは、N G FとT r k Aとの会合を、ならびにN G Fとp 7 5との会合を抑制し、および／または疼痛を抑制するかまたは防止する。一実施形態では、本発明は、N G Fとの結合特異性を有し、そして下記の配列を含む可変軽鎖配列を保有するキメラまたはヒト化抗体を包含する：

【化 4 1】

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQSSQNVYKNNYLSWYQQKPGKVPKLLIYKASTL
ASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDVATYYCAGGYTSSSDNAFGGGTKVEIKR
(配列番号 1 3 1)。

10

【0 2 5 5】

本発明は、N G Fとの結合特異性を有し、そして下記の配列を含む軽鎖配列を保有するキメラ抗体も包含する：

【化 4 2】

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQSSQNVYKNNYLSWYQQKPGKVPKLLIYKASTL
ASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDVATYYCAGGYTSSSDNAFGGGTKVEIKRT
VAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVT
EQDSKDDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
(配列番号 1 3 2)。

20

【0 2 5 6】

本発明はさらに、N G Fとの結合特異性を有し、そして下記の配列を含む可変重鎖配列を保有するキメラまたはヒト化抗体を包含する：

【化 4 3】

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTVSTYWMSWVRQAPGKGLEWVGDIYFS
NEETNYASSAKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGSPDVDIGIDM
WPGGTLVTVSS (配列番号 1 3 3)。

30

【0 2 5 7】

本発明は、N G Fとの結合特異性を有し、そして下記の配列を含む重鎖配列を保有するキメラまたはヒト化抗体も包含する：

【化 4 4】

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTVSTYWMSWVRQAPGKGLEWVGDIYFS
NEETNYASSAKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGSPDVDIGIDM
WGPGTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA
LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKS
CDKTHHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFN
WYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP
APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG
QPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQK
SLSLSPGK (配列番号 1 3 4)。

10

【0 2 5 8】

本発明はさらに、配列番号 1 3 1 の可変軽鎖配列の相補性決定領域 (C D R または超可変領域) に対応する配列番号 1 3 5、配列番号 1 3 6 および配列番号 1 3 7 のポリペプチド配列、または配列番号 1 3 2 の軽鎖配列のうちの 1 つ以上、および／または配列番号 1 3 3 の可変重鎖配列の相補性決定領域 (C D R または超可変領域) に対応する配列番号 1 3 8、配列番号 1 3 9 および配列番号 1 4 0 のポリペプチド配列、または配列番号 1 3 4 の重鎖配列のうちの 1 つ以上、あるいはこれらのポリペプチド配列の組合せを含む抗体を意図する。本発明の別の実施形態では、本発明の抗体またはそのフラグメントは、上記の C D R、可変重鎖および可変軽鎖配列、ならびに重鎖および軽鎖配列のうちの (それらのすべてを含めて) 1 つ以上の組合せを含み、代替的にはそれらで構成される。

20

【0 2 5 9】

本発明は、N G F との結合特性を有する抗体のフラグメントも意図する。本発明の一実施形態では、本発明の抗体フラグメントは、配列番号 1 3 1 または配列番号 1 3 2 のポリペプチド配列を含むか、代替的にはそれらで構成される。本発明の別の実施形態では、本発明の抗体フラグメントは、配列番号 1 3 3 または配列番号 1 3 4 のポリペプチド配列を含むか、代替的にはそれらで構成される。

30

【0 2 6 0】

本発明のさらなる一実施形態では、N G F との結合特異性を有する抗体のフラグメントは、配列番号 1 3 1 の可変軽鎖配列の相補性決定領域 (C D R または超可変領域) に対応する配列番号 1 3 5、配列番号 1 3 6 および配列番号 1 3 7 のポリペプチド配列、または配列番号 1 3 2 の軽鎖配列のうちの 1 つ以上を含むか、代替的にはそれらで構成される。

【0 2 6 1】

本発明のさらなる一実施形態では、N G F との結合特異性を有する抗体のフラグメントは、配列番号 1 3 3 の可変重鎖配列の相補性決定領域 (C D R または超可変領域) に対応する配列番号 1 3 8、配列番号 1 3 9 および配列番号 1 4 0 のポリペプチド配列、または配列番号 1 3 4 の重鎖配列のうちの 1 つ以上を含むか、代替的にはそれらで構成される。

40

【0 2 6 2】

本発明は、本明細書中に記載される抗体フラグメントのうちの 1 つ以上を包含する抗体フラグメントも意図する。本発明の一実施形態では、N G F との結合特異性を有する抗体のフラグメントは、以下の抗体フラグメントのすべてを含めて、1、2、3 またはそれ以上を含むか、代替的にはそれらで構成される：配列番号 1 3 1 の可変軽鎖領域；配列番号 1 3 3 の可変重鎖領域；配列番号 1 3 1 の可変軽鎖領域の相補性決定領域 (配列番号 1 3 5、配列番号 1 3 6 および配列番号 1 3 7)；ならびに配列番号 1 3 3 の可変重鎖領域の相補性決定領域 (配列番号 1 3 8、配列番号 1 3 9 および配列番号 1 4 0)。

【0 2 6 3】

本発明の特に好ましい一実施形態では、キメラまたはヒト化抗 N G F 抗体は、配列番号

50

1 3 2 および配列番号 1 3 4 を含むか、代替的にはそれらで構成され、そして本明細書中に記述される生物学的活性のうちの少なくとも 1 つを有する A b 1 4 である。

【0 2 6 4】

本発明のさらなる特に好ましい一実施形態では、抗体フラグメントは、N G F に関する結合特異性を有する F a b (フラグメント抗原結合) フラグメント、または本明細書中に記載される M e t M a b 様一価薬剤を含むか、代替的にはそれらで構成される。抗体 A b 1 4 に関しては、F a b フラグメントは、配列番号 1 3 1 の可変軽鎖配列、ならびに配列番号 1 3 3 の可変重鎖配列を包含する。本発明のこの実施形態は、N G F に関する結合特異性を保持しながら、上記 F a b における配列番号 1 3 1 および／または配列番号 1 3 3 の付加、欠失および変異をさらに企図する。

10

【0 2 6 5】

本明細書中に記載される(下記)本発明の一実施形態では、F a b フラグメントは、A b 1 4 の酵素的消化(例えばパパイン)により産生され得る。本発明の別の実施形態では、抗 N G F 抗体、例えば A b 1 4 またはその F a b フラグメントは、C H O、N S O または H E K 2 9 3 細胞のような哺乳類細胞、真菌、昆虫、植物、動物または微生物系、例えば細菌または酵母細胞(例えば、二倍体酵母、例えば二倍体ピキア属)および他の酵母系統における発現により産生され得る。適切なピキア種としてはピキア・パストリス(P i c h i a p a s t o r i s)が挙げられるが、これに限定されない。

抗体 A b 1 5

【0 2 6 6】

20

例示的一実施形態では、本発明は、抗体 A b 1 5 またはそのフラグメント、あるいは A b 1 5 と同一のまたは重複するエピトープと結合する抗体または抗体フラグメントを、単独で、または別の活性作用物質、例えば N S A I D またはオピオイド鎮痛薬または別の生物製剤と連携して、疼痛または無痛覚症を処置するかまたは防止する場合におけるその使用を提供するが、この場合、上記の抗体または抗体フラグメントは、N G F と T r k A との会合を抑制し、N G F と p 7 5 との会合に容易に感知可能な影響を及ぼさず、および／または疼痛を抑制するかまたは防止する。一実施形態では、本発明は、N G F との結合特異性を有し、そして下記の配列を含む可変軽鎖配列を保有するキメラ抗体を包含する：

【化 4 5】

AAVLTQTPSPVSAAVGDTVTIKCQSSQSVYKNNYLSWYQQKPGQPPLLIYDASN
LPSGVPSRFSGSGSGTQFTLTISGVQCDDAATYYCLGDYDDDDTDNGFGGGTEVVV
KR (配列番号 1 4 1)。

30

【0 2 6 7】

本発明は、N G F との結合特異性を有し、そして下記の配列を含む軽鎖配列を保有するキメラ抗体も包含する：

【化 4 6】

AAVLTQTPSPVSAAVGDTVTIKCQSSQSVYKNNYLSWYQQKPGQPPLLIYDASN
LPSGVPSRFSGSGSGTQFTLTISGVQCDDAATYYCLGDYDDDDTDNGFGGGTEVVV
KRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQE
SVTEQDSKDSSTLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
(配列番号 1 4 2)。

40

【0 2 6 8】

本発明はさらに、N G F との結合特異性を有し、そして下記の配列を含む可変重鎖配列を保有するキメラ抗体を包含する：

【化 4 7】

QSVEESGGRLVTPGTPLTLTCTVSGIDLSSYAMIWVRQAPGKGLEYIGIIWSGGTTY
ATWAKGRFTISKSTTTVDLQITSPTTEDAATYFCAAGGGSIYDVWGPGLTVTVSS
(配列番号 1 4 3)。

【0 2 6 9】

本発明は、NGFとの結合特異性を有し、そして下記の配列を含む重鎖配列を保有するキメラ抗体も包含する：

【化 4 8】

QSVEESGGRLVTPGTPLTLTCTVSGIDLSSYAMIWVRQAPGKGLEYIGIIWSGGTTY
ATWAKGRFTISKSTTTVDLQITSPTTEDAATYFCAAGGGSIYDVWGPGLTVTVSSA
STKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL
QSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCP
APPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH
NAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK
GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP
VLDSGDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
(配列番号 1 4 4)。

【0 2 7 0】

本発明はさらに、配列番号 1 4 1 の可変軽鎖配列の相補性決定領域（CDRまたは超可変領域）に対応する配列番号 1 4 5、配列番号 1 4 6 および配列番号 1 4 7 のポリペプチド配列、または配列番号 1 4 2 の軽鎖配列のうちの 1 つ以上、および／または配列番号 1 4 3 の可変重鎖配列の相補性決定領域（CDRまたは超可変領域）に対応する配列番号 1 4 8、配列番号 1 4 9 および配列番号 1 5 0 のポリペプチド配列、または配列番号 1 4 4 の重鎖配列のうちの 1 つ以上、あるいはこれらのポリペプチド配列の組合せを含む抗体を意図する。本発明の別の実施形態では、本発明の抗体またはそのフラグメントは、上記の CDR、可変重鎖および可変軽鎖配列、ならびに重鎖および軽鎖配列のうちの（それらのすべてを含めて）1 つ以上の組合せを含み、代替的にはそれらで構成される。

【0 2 7 1】

本発明は、NGFとの結合特性を有する抗体のフラグメントも意図する。本発明の一実施形態では、本発明の抗体フラグメントは、配列番号 1 4 1 または配列番号 1 4 2 のポリペプチド配列を含むか、代替的にはそれらで構成される。本発明の別の実施形態では、本発明の抗体フラグメントは、配列番号 1 4 3 または配列番号 1 4 4 のポリペプチド配列を含むか、代替的にはそれらで構成される。

【0 2 7 2】

本発明のさらなる一実施形態では、NGFとの結合特異性を有する抗体のフラグメントは、配列番号 1 4 1 の可変軽鎖配列の相補性決定領域（CDRまたは超可変領域）に対応する配列番号 1 4 5、配列番号 1 4 6 および配列番号 1 4 7 のポリペプチド配列、または配列番号 1 4 2 の軽鎖配列のうちの 1 つ以上を含むか、代替的にはそれらで構成される。

【0 2 7 3】

本発明のさらなる一実施形態では、NGFとの結合特異性を有する抗体のフラグメントは、配列番号 1 4 3 の可変重鎖配列の相補性決定領域（CDRまたは超可変領域）に対応する配列番号 1 4 8、配列番号 1 4 9 および配列番号 1 5 0 のポリペプチド配列、または配列番号 1 4 4 の重鎖配列のうちの 1 つ以上を含むか、代替的にはそれらで構成される。

【0 2 7 4】

本発明は、本明細書中に記載される抗体フラグメントのうちの1つ以上を包含する抗体フラグメントも意図する。本発明の一実施形態では、NGFとの結合特異性を有する抗体のフラグメントは、以下の抗体フラグメントのすべてを含めて、1、2、3またはそれ以上を含むか、代替的にはそれらで構成される：配列番号141の可変軽鎖領域；配列番号143の可変重鎖領域；配列番号141の可変軽鎖領域の相補性決定領域（配列番号145、配列番号146および配列番号147）；ならびに配列番号143の可変重鎖領域の相補性決定領域（配列番号148、配列番号149および配列番号150）。

【0275】

本発明の特に好ましい一実施形態では、キメラ抗NGF抗体は、配列番号142および配列番号144を含むか、代替的にはそれらで構成され、そして本明細書中に記述される生物学的活性のうちの少なくとも1つを有するAb15である。

10

【0276】

本発明のさらなる特に好ましい一実施形態では、抗体フラグメントは、NGFに関する結合特異性を有するFab（フラグメント抗原結合）フラグメント、または本明細書中に記載されるMetMab様一価薬剤を含むか、代替的にはそれらで構成される。抗体Ab15に関しては、Fabフラグメントは、配列番号141の可変軽鎖配列、ならびに配列番号143の可変重鎖配列を包含する。本発明のこの実施形態は、NGFに関する結合特異性を保持しながら、上記Fabにおける配列番号141および／または配列番号143の付加、欠失および変異をさらに企図する。

【0277】

20

本明細書中に記載される（下記）本発明の一実施形態では、Fabフラグメントは、Ab15の酵素的消化（例えばパパイン）により産生され得る。本発明の別の実施形態では、抗NGF抗体、例えばAb15またはそのFabフラグメントは、CHO、NSOまたはHEK293細胞のような哺乳類細胞、真菌、昆虫、植物、動物または微生物系、例えば細菌または酵母細胞（例えば、二倍体酵母、例えば二倍体ピキア属）および他の酵母系統における発現により産生され得る。適切なピキア種としてはピキア・パストリス（*Pichia pastoris*）が挙げられるが、これに限定されない。

抗体Ab16

【0278】

例示的一実施形態では、本発明は、抗体Ab16またはそのフラグメント、あるいはAb16と同一のまたは重複するエピトープと結合する抗体または抗体フラグメントを、そして、単独で、または別の活性作用物質、例えばNSAIDまたはオピオイド鎮痛薬または別の生物製剤と連携して、疼痛または無痛覚症を処置するかまたは防止する場合におけるその使用を提供するが、この場合、上記の抗体または抗体フラグメントは、NGFとTrkAとの会合を抑制し、NGFとp75との会合に容易に感知可能な影響を及ぼさず、および／または疼痛を抑制するかまたは防止する。一実施形態では、本発明は、NGFとの結合特異性を有し、そして下記の配列を含む可変軽鎖配列を保有するキメラまたはヒト化抗体を包含する：

30

【化49】

ALVMTQTPSSTSEPVGGTVTINCQASQNIGNDLSWYQQKPGQPPELLIYSTSKLAT
GVPKRFSGSRSGTQFTLTISDLECDAAATYYCLGVYSYISDDGNAFGGGTEVVVKR
(配列番号151)。

40

【0279】

本発明は、NGFとの結合特異性を有し、そして下記の配列を含む軽鎖配列を保有するキメラまたはヒト化抗体も包含する：

【化 5 0】

ALVMTQTPSSTSEPVGGTVTINCQASQNIGNDLSWYQQKPGQPPELLIYSTSKLAT
GVPKRFSGSRSGTQFTLTISDLECDAAATYYCLGVYSYISDDGNAFGGGTEVVVKR
TVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESV
TEQDSKDSSTYSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
(配列番号 1 5 2)。

【0 2 8 0】

10

本発明はさらに、NGFとの結合特異性を有し、そして下記の配列を含む可変重鎖配列を保有するキメラまたはヒト化抗体を包含する：

【化 5 1】

QSVVEFGGRLVTPGTPLTLTCTVSGFSLNNYAMTWVRQAPGKGLEWIGIIGSIGTT
YYASWAKGRFFISKSTSTTVDLKIISPTTEDTATYFCARDAGVTVDGYGYFNIWGP
GTLVTVSS (配列番号 1 5 3)。

【0 2 8 1】

本発明は、NGFとの結合特異性を有し、そして下記の配列を含む重鎖配列を保有するキメラまたはヒト化抗体も包含する：

20

【化 5 2】

QSVVEFGGRLVTPGTPLTLTCTVSGFSLNNYAMTWVRQAPGKGLEWIGIIGSIGTT
YYASWAKGRFFISKSTSTTVDLKIISPTTEDTATYFCARDAGVTVDGYGYFNIWGP
GTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS
GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCD
KTHHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNW
YVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA
PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP
ENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSVSMHEALHNHYTQKSLS
LSPGK (配列番号 1 5 4)。

30

【0 2 8 2】

本発明はさらに、配列番号 1 5 1 の可変軽鎖配列の相補性決定領域 (CDR または超可変領域) に対応する配列番号 1 5 5、配列番号 1 5 6 および配列番号 1 5 7 のポリペプチド配列、または配列番号 1 5 2 の軽鎖配列のうちの 1 つ以上、および／または配列番号 1 5 3 の可変重鎖配列の相補性決定領域 (CDR または超可変領域) に対応する配列番号 1 5 8、配列番号 1 5 9 および配列番号 1 6 0 のポリペプチド配列、または配列番号 1 5 4 の重鎖配列のうちの 1 つ以上、あるいはこれらのポリペプチド配列の組合せを含む抗体を意図する。本発明の別の実施形態では、本発明の抗体またはそのフラグメントは、上記の CDR、可変重鎖および可変軽鎖配列、ならびに重鎖および軽鎖配列のうちの (それらのすべてを含めて) 1 つ以上の組合せを含み、代替的にはそれらで構成される。

40

【0 2 8 3】

本発明は、NGFとの結合特性を有する抗体のフラグメントも意図する。本発明の一実施形態では、本発明の抗体フラグメントは、配列番号 1 5 1 または配列番号 1 5 2 のポリペプチド配列を含むか、代替的にはそれらで構成される。本発明の別の実施形態では、本

50

発明の抗体フラグメントは、配列番号 1 5 3 または配列番号 1 5 4 のポリペプチド配列を含むか、代替的にはそれらで構成される。

【0 2 8 4】

本発明のさらなる一実施形態では、NGF との結合特異性を有する抗体のフラグメントは、配列番号 1 5 1 の可変軽鎖配列の相補性決定領域（CDR または超可変領域）に対応する配列番号 1 5 5、配列番号 1 5 6 および配列番号 1 5 7 のポリペプチド配列、または配列番号 1 5 2 の軽鎖配列のうちの 1 つ以上を含むか、代替的にはそれらで構成される。

【0 2 8 5】

本発明のさらなる一実施形態では、NGF との結合特異性を有する抗体のフラグメントは、配列番号 1 5 3 の可変重鎖配列の相補性決定領域（CDR または超可変領域）に対応する配列番号 1 5 8、配列番号 1 5 9 および配列番号 1 6 0 のポリペプチド配列、または配列番号 1 5 4 の重鎖配列のうちの 1 つ以上を含むか、代替的にはそれらで構成される。

【0 2 8 6】

本発明は、本明細書中に記載される抗体フラグメントのうちの 1 つ以上を包含する抗体フラグメントも意図する。本発明の一実施形態では、NGF との結合特異性を有する抗体のフラグメントは、以下の抗体フラグメントのすべてを含めて、1、2、3 またはそれ以上を含むか、代替的にはそれらで構成される：配列番号 1 5 1 の可変軽鎖領域；配列番号 1 5 3 の可変重鎖領域；配列番号 1 5 1 の可変軽鎖領域の相補性決定領域（配列番号 1 5 5、配列番号 1 5 6 および配列番号 1 5 7）；ならびに配列番号 1 5 3 の可変重鎖領域の相補性決定領域（配列番号 1 5 8、配列番号 1 5 9 および配列番号 1 6 0）。

【0 2 8 7】

本発明の特に好ましい一実施形態では、キメラまたはヒト化抗 NGF 抗体は、配列番号 1 5 2 および配列番号 1 5 4 を含むか、代替的にはそれらで構成され、そして本明細書中に記述される生物学的活性のうちの少なくとも 1 つを有する Ab 1 6 である。

【0 2 8 8】

本発明のさらなる特に好ましい一実施形態では、抗体フラグメントは、NGF に関する結合特異性を有する Fab（フラグメント抗原結合）フラグメント、または本明細書中に記載される Met Mab 様一価薬剤を含むか、代替的にはそれらで構成される。抗体 Ab 1 6 に関しては、Fab フラグメントは、配列番号 1 5 1 の可変軽鎖配列、ならびに配列番号 1 5 3 の可変重鎖配列を包含する。本発明のこの実施形態は、NGF に関する結合特異性を保持しながら、上記 Fab における配列番号 1 5 1 および／または配列番号 1 5 3 の付加、欠失および変異をさらに企図する。

【0 2 8 9】

本明細書中に記載される（下記）本発明の一実施形態では、Fab フラグメントは、Ab 1 6 の酵素的消化（例えばパパイン）により産生され得る。本発明の別の実施形態では、抗 NGF 抗体、例えば Ab 1 6 またはその Fab フラグメントは、CHO、NSO または HEK 2 9 3 細胞のような哺乳類細胞、真菌、昆虫、植物、動物または微生物系、例えば細菌または酵母細胞（例えば、二倍体酵母、例えば二倍体ピキア属）および他の酵母系統における発現により産生され得る。適切なピキア種としてはピキア・パストリス（*Pichia pastoris*）が挙げられるが、これに限定されない。

抗体 Ab 1 7

【0 2 9 0】

例示的一実施形態では、本発明は、抗体 Ab 1 7 またはそのフラグメント、あるいは Ab 1 7 と同一のまたは重複するエピトープと結合する抗体または抗体フラグメントを、そして、単独で、または別の活性作用物質、例えば NSAID またはオピオイド鎮痛薬または別の生物製剤と連携して、疼痛または無痛覚症を処置するかまたは防止する場合におけるその使用を提供するが、この場合、上記の抗体または抗体フラグメントは、NGF と Trk A との会合、および NGF と p 7 5 との会合を抑制し、および／または疼痛を抑制するかまたは防止する。一実施形態では、本発明は、NGF との結合特異性を有し、そして下記の配列を含む可変軽鎖配列を保有するキメラ抗体を包含する：

【化 5 3】

AIEMTQTPFSVSAAVGGTVTIKCQASQTISNYLAWYQQKPGQPPKLLIYGASNLES
GVPSRFKGS GSGTQFTLTISDLECDAAATYYCQQGYTISNVDNNVFGGGTEVVVK
R (配列番号 1 6 1)。

【0 2 9 1】

本発明は、NGFとの結合特異性を有し、そして下記の配列を含む軽鎖配列を保有するキメラ抗体も包含する：

【化 5 4】

10

AIEMTQTPFSVSAAVGGTVTIKCQASQTISNYLAWYQQKPGQPPKLLIYGASNLES
GVPSRFKGS GSGTQFTLTISDLECDAAATYYCQQGYTISNVDNNVFGGGTEVVVK
RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQES
VTEQDSKDSSTLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
(配列番号 1 6 2)。

【0 2 9 2】

本発明はさらに、NGFとの結合特異性を有し、そして下記の配列を含む可変重鎖配列を保有するキメラ抗体を包含する：

20

【化 5 5】

QSLEESGGRLVTPGGSLTLTCAASGFSLTGYNLVWVRQAPGKGLEWIGFISYGD
TTYYASWAKGRFTISKSTSTTVTLTITDLQPSDTGTYFCARETANTYDYGIWGP
GTLVT VSS (配列番号 1 6 3)。

【0 2 9 3】

本発明は、NGFとの結合特異性を有し、そして下記の配列を含む重鎖配列を保有するキメラ抗体も包含する：

30

【化 5 6】

QSLEESGGRLVTPGGSLTLTCAASGFSLTGYNLVWVRQAPGKGLEWIGFISYGD
TTYYASWAKGRFTISKSTSTTVTLTITDLQPSDTGTYFCARETANTYDYGIWGP
GTLVT VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALT
SGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPK
SCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL
PAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES
NGQPENNYK TTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYT
QKSLSLSPGK (配列番号 1 6 4)。

40

【0 2 9 4】

本発明はさらに、配列番号 1 6 1 の可変軽鎖配列の相補性決定領域 (CDR または超可変領域) に対応する配列番号 1 6 5、配列番号 1 6 6 および配列番号 1 6 7 のポリペプチド配列、または配列番号 1 6 2 の軽鎖配列のうちの 1 つ以上、および／または配列番号 1 6 3 の可変重鎖配列の相補性決定領域 (CDR または超可変領域) に対応する配列番号 1 6 8、配列番号 1 6 9 および配列番号 1 7 0 のポリペプチド配列、または配列番号 1 6 4

50

の重鎖配列のうちの1つ以上、あるいはこれらのポリペプチド配列の組合せを含む抗体を意図する。本発明の別の実施形態では、本発明の抗体またはそのフラグメントは、上記のCDR、可変重鎖および可変軽鎖配列、ならびに重鎖および軽鎖配列のうちの（それらのすべてを含めて）1つ以上の組合せを含み、代替的にはそれらで構成される。

【0295】

本発明は、NGFとの結合特性を有する抗体のフラグメントも意図する。本発明の一実施形態では、本発明の抗体フラグメントは、配列番号161または配列番号162のポリペプチド配列を含むか、代替的にはそれらで構成される。本発明の別の実施形態では、本発明の抗体フラグメントは、配列番号163または配列番号164のポリペプチド配列を含むか、代替的にはそれらで構成される。

10

【0296】

本発明のさらなる一実施形態では、NGFとの結合特異性を有する抗体のフラグメントは、配列番号161の可変軽鎖配列の相補性決定領域（CDRまたは超可変領域）に対応する配列番号165、配列番号166および配列番号167のポリペプチド配列、または配列番号162の軽鎖配列のうちの1つ以上を含むか、代替的にはそれらで構成される。

【0297】

本発明のさらなる一実施形態では、NGFとの結合特異性を有する抗体のフラグメントは、配列番号163の可変重鎖配列の相補性決定領域（CDRまたは超可変領域）に対応する配列番号168、配列番号169および配列番号170のポリペプチド配列、または配列番号164の重鎖配列のうちの1つ以上を含むか、代替的にはそれらで構成される。

20

【0298】

本発明は、本明細書中に記載される抗体フラグメントのうちの1つ以上を包含する抗体フラグメントも意図する。本発明の一実施形態では、NGFとの結合特異性を有する抗体のフラグメントは、以下の抗体フラグメントのすべてを含めて、1、2、3またはそれ以上を含むか、代替的にはそれらで構成される：配列番号161の可変軽鎖領域；配列番号163の可変重鎖領域；配列番号161の可変軽鎖領域の相補性決定領域（配列番号165、配列番号166および配列番号167）；ならびに配列番号163の可変重鎖領域の相補性決定領域（配列番号168、配列番号169および配列番号170）。

【0299】

本発明の特に好ましい一実施形態では、キメラ抗NGF抗体は、配列番号162および配列番号164を含むか、代替的にはそれらで構成され、そして本明細書中に記述される生物学的活性のうちの少なくとも1つを有するAb17である。

30

【0300】

本発明のさらなる特に好ましい一実施形態では、抗体フラグメントは、NGFに関する結合特異性を有するFab（フラグメント抗原結合）フラグメント、または本明細書中に記載されるMetMab様一価薬剤を含むか、代替的にはそれらで構成される。抗体Ab17に関しては、Fabフラグメントは、配列番号161の可変軽鎖配列、ならびに配列番号163の可変重鎖配列を包含する。本発明のこの実施形態は、NGFに関する結合特異性を保持しながら、上記Fabにおける配列番号161および／または配列番号163の付加、欠失および変異をさらに企図する。

40

【0301】

本明細書中に記載される（下記）本発明の一実施形態では、Fabフラグメントは、Ab17の酵素的消化（例えばパパイン）により産生され得る。本発明の別の実施形態では、抗NGF抗体、例えばAb17またはそのFabフラグメントは、CHO、NSOまたはHEK293細胞のような哺乳類細胞、真菌、昆虫、植物、動物または微生物系、例えば細菌または酵母細胞（例えば、二倍体酵母、例えば二倍体ピキア属）および他の酵母系統における発現により産生され得る。適切なピキア種としてはピキア・パストリス（*Pichia pastoris*）が挙げられるが、これに限定されない。

【0302】

抗体Ab18

50

1つの例示的实施形態では、本発明は、抗体Ab18もしくはそのフラグメント、またはAb18と同じもしくは重複するエピトープと結合する抗体もしくは抗体フラグメント、および疼痛または無痛覚症の治療または予防における、単独でのその使用または別の活性作用物質、例えば、NSAIDもしくはオピオイド鎮痛剤または別の生物製剤とのその併用を提供し、前記抗体または抗体フラグメントは、NGFとTrkAとの結合およびNGFとp75との結合を阻害し、かつ／または疼痛を抑制もしくは予防する。一実施形態では、本発明は、NGFに対する結合特異性を有し、かつ次に記載する配列を含む可変軽鎖配列を有する、キメラ抗体またはヒト化抗体を含む：

DIQMTQSPSTLSASVGDRTITCQASQTISNYLAWYQQKPGKAPKLLIYGASNLESGVPSRFSGSGSGTEFTLTITSSSLQPD

DDFATYYCQQGYTISNVDNNVFGGGTKVEIKR（配列番号171）。

10

【0303】

また本発明は、NGFに対する結合特異性を有し、かつ次に記載する配列を含む軽鎖配列を有する、キメラ抗体またはヒト化抗体も含む：

DIQMTQSPSTLSASVGDRTITCQASQTISNYLAWYQQKPGKAPKLLIYGASNLESGVPSRFSGSGSGTEFTLTITSSSLQPD

DDFATYYCQQGYTISNVDNNVFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS

GNSQESVTEQDSKDSSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC（配列番号172）。

20

【0304】

さらに本発明は、NGFに対する結合特異性を有し、かつ次に記載する配列を含む可変重鎖配列を有する、キメラ抗体またはヒト化抗体も含む：

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTVSGYNLVWVRQAPGKGLEWVGFI

SYGDTTYYASSAKGRFTISRDN

SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARETANTYDYG

IWGQGT

LVTVSS（配列番号173）。

【0305】

また本発明は、NGFに対する結合特異性を有し、かつ次に記載する配列を含む重鎖配列を有する、キメラ抗体またはヒト化抗体も含む：

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTVSGYNLVWVRQAPGKGLEWVGFI

SYGDTTYYASSAKGRFTISRDN

SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARETANTYDYG

IWGQGT

LVTVSSAS

TKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA

LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV

VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRV

EPKSCDKTHTCP

PCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV

VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSV

LVTLHQLDNLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI

SKAKGQPREPQVY

TLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES

NGQPENNYKTTTPPVLDSDG

SFFLYSKLTVDKSRWQQGNV

FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLS

SPGK（配列番号174）。

30

40

【0306】

さらに本発明は、配列番号の可変軽鎖配列171もしくは配列番号172の軽鎖配列の相補性決定領域（CDRもしくは超可変領域）に対応する配列番号175、配列番号176および配列番号177のポリペプチド配列を1つ以上、および／または配列番号173の可変重鎖配列もしくは配列番号174の重鎖配列の相補性決定領域（CDRもしくは超可変領域）に対応する配列番号178、配列番号179および配列番号180のポリペプチド配列を1つ以上、または上記ポリペプチド配列の組合せを含む抗体を企図する。本発

50

明の別の実施形態では、本発明の抗体またはそのフラグメントは、上記すべてを含めた、上記 C D R、可変重鎖および可変軽鎖配列ならびに重鎖および軽鎖配列の 1 つ以上の組合せを含むか、あるいはこれよりなる。

【0307】

また本発明は、N G F に対する結合特異性を有する抗体のフラグメントも企図する。本発明の一実施形態では、本発明の抗体フラグメントは、配列番号 171 または配列番号 172 のポリペプチド配列を含むか、あるいはこれよりなる。本発明の別の実施形態では、本発明の抗体フラグメントは、配列番号 173 または配列番号 174 のポリペプチド配列を含むか、あるいはこれよりなる。

【0308】

本発明のさらなる実施形態では、N G F に対する結合特異性を有する抗体のフラグメントは、配列番号 171 の可変軽鎖配列または配列番号 172 の軽鎖配列の相補性決定領域 (C D R または超可変領域) に対応する配列番号 175、配列番号 176 および配列番号 177 のポリペプチド配列を 1 つ以上含むか、あるいはこれよりなる。

【0309】

本発明のさらなる実施形態では、N G F に対する結合特異性を有する抗体のフラグメントは、配列番号 173 の可変重鎖配列または配列番号 174 の重鎖配列の相補性決定領域 (C D R または超可変領域) に対応する配列番号 178、配列番号 179 および配列番号 180 のポリペプチド配列を 1 つ以上含むか、あるいはこれよりなる。

【0310】

また本発明は、本明細書に記載の抗体フラグメントを 1 つ以上含む抗体フラグメントも企図する。本発明の一実施形態では、N G F に対する結合特異性を有する抗体のフラグメントは、次に挙げる抗体フラグメントを、そのすべても含め、1 つ、2 つ、3 つまたはそれ以上含むか、あるいはこれよりなる：配列番号 171 の可変軽鎖領域；配列番号 173 の可変重鎖領域；配列番号 171 の可変軽鎖領域の相補性決定領域 (配列番号 175、配列番号 176 および配列番号 177)；および配列番号 173 の可変重鎖領域の相補性決定領域 (配列番号 178、配列番号 179 および配列番号 180)。

【0311】

本発明の特に好適な実施形態では、キメラ抗 N G F 抗体またはヒト化抗 N G F 抗体は、配列番号 172 および配列番号 174 を含むか、あるいはこれよりなり、かつ本明細書に記載の生物活性を少なくとも 1 つ含む、A b 18 である。

【0312】

本発明の特に好適なさらなる実施形態では、抗体フラグメントは、本明細書に記載の N G F に対する結合特異性を有する F a b (抗原結合) フラグメントまたは M e t M a b 様一価薬剤を含むか、あるいはこれよりなる。抗体 A b 18 に関して、F a b フラグメントは、配列番号 171 の可変軽鎖配列と配列番号 173 の可変重鎖配列とを含む。本発明のこの実施形態は、N G F に対する結合特異性を保持した状態での前記 F a b 内の配列番号 171 および／または配列番号 173 に対する付加、欠失および変異をさらに企図する。

【0313】

本明細書に記載の本発明の一実施形態 (下記) では、A b 18 の酵素消化 (例えば、パパイン) により F a b フラグメントを作製してもよい。本発明の別の実施形態では、C H O、N S O もしくは H E K 293 細胞などの哺乳動物細胞、真菌、昆虫、植物、動物、または細菌細胞もしくは酵母細胞 (例えば、二倍体ピキア属 (P i c h i a) のような二倍体酵母) その他の酵母菌株などの微生物系での発現により、A b 18 またはその F a b フラグメントのような抗 N G F 抗体を作製してもよい。適当なピキア (P i c h i a) 種としては、特に限定されないが、ピキア・パストリス (P i c h i a p a s t o r i s) が挙げられる。

【0314】

抗体 A b 19

1 つの例示的实施形態では、本発明は、抗体 A b 19 もしくはそのフラグメント、また

10

20

30

40

50

はA b 1 9と同じもしくは重複するエピトープと結合する抗体もしくは抗体フラグメント、および疼痛または無痛覚症の治療または予防における、単独でのその使用または別の活性作用物質、例えば、N S A I Dもしくはオピオイド鎮痛剤または別の生物製剤とのその併用を提供し、前記抗体または抗体フラグメントは、N G FとT r k Aとの結合およびN G Fとp 7 5との結合を阻害し、かつ／または疼痛を抑制もしくは予防する。一実施形態では、本発明は、N G Fに対する結合特異性を有し、かつ次に記載する配列を含む可変軽鎖配列を有する、キメラ抗体を含む：

A A V L T Q T P S P V S A A V G G T V S I S C Q S S Q N V Y K N N Y L S W Y Q Q
K P G Q P P K L L I Y K A S T L A S G V P S R F K G S G S G T D F T L T I S D V
Q C D A A A T Y Y C A G G Y S S S S D N A F G G G T E V V V K R (配列番号1 8 1)。

10

【0 3 1 5】

また本発明は、N G Fに対する結合特異性を有し、かつ次に記載する配列を含む軽鎖配列を有する、キメラ抗体も含む：

A A V L T Q T P S P V S A A V G G T V S I S C Q S S Q N V Y K N N Y L S W Y Q Q
K P G Q P P K L L I Y K A S T L A S G V P S R F K G S G S G T D F T L T I S D V
Q C D A A A T Y Y C A G G Y S S S S D N A F G G G T E V V V K R T V A A P S V F
I F P P S D E Q L K S G T A S V V C L L N N F Y P R E A K V Q W K V D N A L Q S
G N S Q E S V T E Q D S K D S T Y S L S S T L T L S K A D Y E K H K V Y A C E V
T H Q G L S S P V T K S F N R G E C (配列番号1 8 2)。

20

【0 3 1 6】

さらに本発明は、N G Fに対する結合特異性を有し、かつ次に記載する配列を含む可変重鎖配列を有する、キメラ抗体を含む：

Q S V E A S G G R L V M P G G S L T L T C T A S G F S L S T Y W M S W V R Q A P
G K G L E W I G D I Y F S N E E T N Y A T W A K G R F T I S K T S T T V D L N V
I S P T T E D T A T Y F C A R G S P D V E I A I D M W G Q G T L V T V S S (配列
番号1 8 3)。

【0 3 1 7】

また本発明は、N G Fに対する結合特異性を有し、かつ次に記載する配列を含む重鎖配列を有する、キメラ抗体も含む：

Q S V E A S G G R L V M P G G S L T L T C T A S G F S L S T Y W M S W V R Q A P
G K G L E W I G D I Y F S N E E T N Y A T W A K G R F T I S K T S T T V D L N V
I S P T T E D T A T Y F C A R G S P D V E I A I D M W G Q G T L V T V S S A S T
K G P S V F P L A P S S K S T S G G T A A L G C L V K D Y F P E P V T V S W N S
G A L T S G V H T F P A V L Q S S G L Y S L S S V V T V P S S S L G T Q T Y I C
N V N H K P S N T K V D K R V E P K S C D K T H T C P P C P A P E L L G G P S V
F L F P P K P K D T L M I S R T P E V T C V V V D V S H E D P E V K F N W Y V D
G V E V H N A K T K P R E E Q Y A S T Y R V V S V L T V L H Q D W L N G K E Y K
C K V S N K A L P A P I E K T I S K A K G Q P R E P Q V Y T L P P S R E E M T K
N Q V S L T C L V K G F Y P S D I A V E W E S N G Q P E N N Y K T T P P V L D S
D G S F F L Y S K L T V D K S R W Q Q G N V F S C S V M H E A L H N H Y T Q K S
L S L S P G K (配列番号1 8 4)。

30

40

【0 3 1 8】

さらに本発明は、配列番号1 8 1の可変軽鎖配列もしくは配列番号1 8 2の軽鎖配列の相補性決定領域(C D Rもしくは超可変領域)に対応する配列番号1 8 5、配列番号1 8 6および配列番号1 8 7のポリペプチド配列を1つ以上、および／または配列番号1 8 3の可変重鎖配列もしくは配列番号1 8 4の重鎖配列の相補性決定領域(C D Rもしくは超可変領域)に対応する配列番号1 8 8、配列番号1 8 9および配列番号1 9 0のポリペプチド配列を1つ以上、または上記ポリペプチド配列の組合せを含む抗体を企図する。本発明の別の実施形態では、本発明の別の実施形態では、本発明の抗体またはそのフラグメン

50

トは、上記すべてを含めた、上記C D R、可変重鎖および可変軽鎖配列ならびに重鎖および軽鎖配列の1つ以上の組合せを含むか、あるいはこれよりなる。

【0319】

また本発明は、N G Fに対する結合特異性を有する抗体のフラグメントも企図する。本発明の一実施形態では、本発明の抗体フラグメントは、配列番号181または配列番号182のポリペプチド配列を含むか、あるいはこれよりなる。本発明の別の実施形態では、本発明の抗体フラグメントは、配列番号183または配列番号184のポリペプチド配列を含むか、あるいはこれよりなる。

【0320】

本発明のさらなる実施形態では、N G Fに対する結合特異性を有する抗体のフラグメントは、配列番号181の可変軽鎖配列または配列番号182の軽鎖配列の相補性決定領域（C D Rまたは超可変領域）に対応する配列番号185、配列番号186および配列番号187のポリペプチド配列を1つ以上含むか、あるいはこれよりなる。

10

【0321】

本発明のさらなる実施形態では、N G Fに対する結合特異性を有する抗体のフラグメントは、配列番号183の可変重鎖配列または配列番号184の重鎖配列の相補性決定領域（C D Rまたは超可変領域）に対応する配列番号188、配列番号189および配列番号190のポリペプチド配列を1つ以上含むか、あるいはこれよりなる。

【0322】

また本発明は、本明細書に記載の抗体フラグメントを1つ以上含む抗体フラグメントも企図する。本発明の一実施形態では、N G Fに対する結合特異性を有する抗体のフラグメントは、次に挙げる抗体フラグメントを、そのすべても含め、1つ、2つ、3つまたはそれ以上含むか、あるいはこれよりなる：配列番号181の可変軽鎖領域；配列番号183の可変重鎖領域；配列番号181の可変軽鎖領域の相補性決定領域（配列番号185、配列番号186および配列番号187）；および配列番号183の可変重鎖領域の相補性決定領域（配列番号188、配列番号189および配列番号190）。

20

【0323】

本発明の特に好適な実施形態では、キメラ抗N G F抗体は、配列番号182および配列番号184を含むか、あるいはこれよりなり、かつ本明細書に記載の生物活性を少なくとも1つ含む、A b 19である。

30

【0324】

本発明の特に好適なさらなる実施形態では、抗体フラグメントは、本明細書に記載のN G Fに対する結合特異性を有するF a b（抗原結合）フラグメントまたはM e t M a b様一価薬剤を含むか、あるいはこれよりなる。抗体A b 19に関して、F a bフラグメントは、配列番号181の可変軽鎖配列と配列番号183の可変重鎖配列とを含む。本発明のこの実施形態は、N G Fに対する結合特異性を保持した状態での前記F a b内の配列番号181および／または配列番号183に対する付加、欠失および変異をさらに企図する。

【0325】

本明細書に記載の本発明の一実施形態（下記）では、A b 19の酵素消化（例えば、パパイン）によりF a bフラグメントを作製してもよい。本発明の別の実施形態では、C H O、N S OもしくはH E K 293細胞などの哺乳動物細胞、真菌、昆虫、植物、動物、または細菌細胞もしくは酵母細胞（例えば、二倍体ピキア属（P i c h i a）のような二倍体酵母）その他の酵母菌株などの微生物系での発現により、A b 19またはそのF a bフラグメントのような抗N G F抗体を作製してもよい。適当なピキア（P i c h i a）種としては、特に限定されないが、ピキア・パストリス（P i c h i a p a s t o r i s）が挙げられる。

40

【0326】

抗体A b 20

1つの例示的实施形態では、本発明は、抗体A b 20もしくはそのフラグメント、またはA b 20と同じもしくは重複するエピトープと結合する抗体もしくは抗体フラグメント、

50

および疼痛または無痛覚症の治療または予防における、単独でのその使用または別の活性作用物質、例えば、NSAIDもしくはオピオイド鎮痛剤または別の生物製剤とのその併用を提供し、前記抗体または抗体フラグメントは、NGFとTrkAとの結合およびNGFとp75との結合を阻害し、かつ／または疼痛を抑制もしくは予防する。一実施形態では、本発明は、NGFに対する結合特異性を有し、かつ次に記載する配列を含む可変軽鎖配列を有する、キメラ抗体またはヒト化抗体を含む：

DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCQSSQNVYKNNYLSWYQQ
KPGKVPKLLIYKASTLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL
QPEDVATYYCAGGYTSSSDNAFGGGTKVEIKR（配列番号191）。

10

【0327】

また本発明は、NGFに対する結合特異性を有し、かつ次に記載する配列を含む軽鎖配列を有する、キメラ抗体またはヒト化抗体も含む：

DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCQSSQNVYKNNYLSWYQQ
KPGKVPKLLIYKASTLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL
QPEDVATYYCAGGYTSSSDNAFGGGTKVEIKRTVAAPSVF
IFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS
GNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEV
THQGLSSPVTKSFNRGEC（配列番号192）。

20

【0328】

さらに本発明は、NGFに対する結合特異性を有し、かつ次に記載する配列を含む可変重鎖配列を有する、キメラ抗体またはヒト化抗体も含む：

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTVSTYWMSSWVRQA
PGKGLEWVGDIYFSNEETNYATSAKGRFTISRDN SKNTLY
LQMNSLRAEDTAVYYCARGSPDVEIAIDMWGQGT LVT VSS
（配列番号193）。

【0329】

また本発明は、NGFに対する結合特異性を有し、かつ次に記載する配列を含む重鎖配列を有する、キメラ抗体またはヒト化抗体も含む：

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTVSTYWMSSWVRQA
PGKGLEWVGDIYFSNEETNYATSAKGRFTISRDN SKNTLY
LQMNSLRAEDTAVYYCARGSPDVEIAIDMWGQGT LVT VSS
ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYFPEPVTVS
WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSSVVTVPSSSLGTQT
YICNVNHKPSNTKVDKRV E PKSCDKTHTCPPCPAPELLGG
PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNW
YVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGK
EYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREE
MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPPV
LDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSC SVMHEALHNHYT
QKSLSLSPGK（配列番号194）。

30

40

【0330】

さらに本発明は、配列番号191の可変軽鎖配列もしくは配列番号192の軽鎖配列の相補性決定領域（CDRもしくは超可変領域）に対応する配列番号195、配列番号196および配列番号197のポリペプチド配列を1つ以上、および／または配列番号193の可変重鎖配列もしくは配列番号194の重鎖配列の相補性決定領域（CDRもしくは超可変領域）に対応する配列番号198、配列番号199および配列番号200のポリペプチド配列を1つ以上、または上記ポリペプチド配列の組合せを含む、抗体も企図する。本発明の別の実施形態では、本発明の抗体またはそのフラグメントは、上記すべてを含めた、上記CDR、可変重鎖および可変軽鎖配列ならびに重鎖および軽鎖配列の1つ以上の組

50

合せを含むか、あるいはこれよりなる。

【0331】

また本発明は、NGFに対する結合特異性を有する抗体のフラグメントも企図する。本発明の一実施形態では、本発明の抗体フラグメントは、配列番号191または配列番号192のポリペプチド配列を含むか、あるいはこれよりなる。本発明の別の実施形態では、本発明の抗体フラグメントは、配列番号193または配列番号194のポリペプチド配列を含むか、あるいはこれよりなる。

【0332】

本発明のさらなる実施形態では、NGFに対する結合特異性を有する抗体のフラグメントは、配列番号191の可変軽鎖配列または配列番号192の軽鎖配列の相補性決定領域（CDRまたは超可変領域）に対応する配列番号195、配列番号196および配列番号197のポリペプチド配列を1つ以上含むか、あるいはこれよりなる。

10

【0333】

本発明のさらなる実施形態では、NGFに対する結合特異性を有する抗体のフラグメントは、配列番号193の可変重鎖配列または配列番号194の重鎖配列の相補性決定領域（CDRもしくは超可変領域）に対応する配列番号198、配列番号199および配列番号200のポリペプチド配列を1つ以上含むか、あるいはこれよりなる。

【0334】

また本発明は、本明細書に記載の抗体フラグメントを1つ以上含む抗体フラグメントも企図する。本発明の一実施形態では、NGFに対する結合特異性を有する抗体のフラグメントは、次に挙げる抗体フラグメントを、そのすべても含め、1つ、2つ、3つまたはそれ以上含むか、あるいはこれよりなる：配列番号191の可変軽鎖領域；配列番号193の可変重鎖領域；配列番号191の可変軽鎖領域の相補性決定領域（配列番号195、配列番号196および配列番号197）；および配列番号193の可変重鎖領域の相補性決定領域（配列番号198、配列番号199および配列番号200）。

20

【0335】

本発明の特に好適な実施形態では、キメラ抗NGF抗体またはヒト化抗NGF抗体は、配列番号192および配列番号194を含むか、あるいはこれよりなり、かつ本明細書に記載の生物活性を少なくとも1つ含む、Ab20である。

【0336】

本発明の特に好適なさらなる実施形態では、抗体フラグメントは、本明細書に記載のNGFに対する結合特異性を有するFab（抗原結合）フラグメントまたはMetMab様一価薬剤を含むか、あるいはこれよりなる。抗体Ab20に関して、Fabフラグメントは、配列番号191の可変軽鎖配列と配列番号193の可変重鎖配列とを含む。本発明のこの実施形態は、NGFに対する結合特異性を保持した状態での前記Fab内の配列番号191および／または配列番号193に対する付加、欠失および変異をさらに企図する。

30

【0337】

本明細書に記載の本発明の一実施形態（下記）では、Ab20の酵素消化（例えば、パパイン）によりFabフラグメントを作製してもよい。本発明の別の実施形態では、CHO、NSOもしくはHEK293細胞などの哺乳動物細胞、真菌、昆虫、植物、動物、または細菌細胞もしくは酵母細胞（例えば、二倍体ピキア属（*Pichia*）のような二倍体酵母）その他の酵母菌株などの微生物系での発現により、Ab20またはそのFabフラグメントのような抗NGF抗体を作製してもよい。適当なピキア（*Pichia*）種としては、特に限定されないが、ピキア・パストリス（*Pichia pastoris*）が挙げられる。

40

【0338】

抗体Ab21

1つの例示的实施形態では、本発明は、抗体Ab21もしくはそのフラグメント、またはAb21と同じもしくは重複するエピトープと結合する抗体もしくは抗体フラグメント、および疼痛または無痛覚症の治療または予防における、単独でのその使用または別の活

50

性作用物質、例えば、NSAIDもしくはオピオイド鎮痛剤または別の生物製剤とのその併用を提供し、前記抗体または抗体フラグメントは、NGFとTrkAとの結合およびNGFとp75との結合を阻害し、かつ／または疼痛を抑制もしくは予防する。一実施形態では、本発明は、NGFに対する結合特異性を有し、かつ次に記載する配列を含む可変軽鎖配列を有する、キメラ抗体またはヒト化抗体を含む：

DIQMTQSPSTLSASVGDRTITCQASQSIYSNLAWYQQKPGKAPKLLIYDASTLESGVPSRFSGSGSGTEYTLTISSSLQPD D F A T Y Y C Q Q G F T V S D I D N A F G G G T K V E I K R (配列番号51)。

【0339】

また本発明は、NGFに対する結合特異性を有し、かつ次に記載する配列を含む軽鎖配列を有する、キメラ抗体またはヒト化抗体も含む：

DIQMTQSPSTLSASVGDRTITCQASQSIYSNLAWYQQKPGKAPKLLIYDASTLESGVPSRFSGSGSGTEYTLTISSSLQPD D F A T Y Y C Q Q G F T V S D I D N A F G G G T K V E I K R T V A A P S V F I F P P S D E Q L K S G T A S V V C L L N N F Y P R E A K V Q W K V D N A L Q S G N S Q E S V T E Q D S K D S T Y S L S S T L T L S K A D Y E K H K V Y A C E V T H Q G L S S P V T K S F N R G E C (配列番号401)。

【0340】

さらに本発明は、NGFに対する結合特異性を有し、かつ次に記載する配列を含む可変重鎖配列を有する、キメラ抗体またはヒト化抗体も含む：

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTVSNYAVGWVRQAPGKGLEWVGIIIGRNGNTWYASSARGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGYGRSVAYYVFNIWGPGLVTVSS (配列番号53)。

【0341】

また本発明は、NGFに対する結合特異性を有し、かつ次に記載する配列を含む重鎖配列を有する、キメラ抗体またはヒト化抗体も含む：

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTVSNYAVGWVRQAPGKGLEWVGIIIGRNGNTWYASSARGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGYGRSVAYYVFNIWGPGLVTVSSASTKGP S V F P L A P S S K S T S G G T A A L G C L V K D Y F P E P V T V S W N S G A L T S G V H T F P A V L Q S S G L Y S L S S V V T V P S S S L G T Q T Y I C N V N H K P S N T K V D A R V E P K S C D K T H T C P P C P A P E L L G G P S V F L F P P K P K D T L M I S R T P E V T C V V V D V S H E D P E V K F N W Y V D G V E V H N A K T K P R E E Q Y A S T Y R V V S V L T V L H Q D W L N G K E Y K C K V S N K A L P A P I E K T I S K A K G Q P R E P Q V Y T L P P S R E E M T K N Q V S L T C L V K G F Y P S D I A V E W E S N G Q P E N N Y K T T P P V L D S D G S F F L Y S K L T V D K S R W Q Q G N V F S C S V M H E A L H N H Y T Q K S L S L S P G K (配列番号402)。

【0342】

さらに本発明は、配列番号51の可変軽鎖配列もしくは配列番号401の軽鎖配列の相補性決定領域(CDRもしくは超可変領域)に対応する配列番号55、配列番号56および配列番号57のポリペプチド配列を1つ以上、および／または配列番号53の可変重鎖配列もしくは配列番号402の重鎖配列の相補性決定領域(CDRもしくは超可変領域)に対応する配列番号58、配列番号59および配列番号60のポリペプチド配列を1つ以上、または上記ポリペプチド配列の組合せを含む、抗体を企図する。本発明の別の実施形態では、本発明の抗体またはそのフラグメントは、上記すべてを含めた、上記CDR、可変重鎖および可変軽鎖配列ならびに重鎖および軽鎖配列の1つ以上の組合せを含むか、あるいはこれよりなる。

【0343】

また本発明は、N G Fに対する結合特異性を有する抗体のフラグメントも企図する。本発明の一実施形態では、本発明の抗体フラグメントは、配列番号51または配列番号401のポリペプチド配列を含むか、あるいはこれよりなる。本発明の別の実施形態では、本発明の抗体フラグメントは、配列番号53または配列番号402のポリペプチド配列を含むか、あるいはこれよりなる。

【0344】

本発明のさらなる実施形態では、N G Fに対する結合特異性を有する抗体のフラグメントは、配列番号51の可変軽鎖配列または配列番号401の軽鎖配列の相補性決定領域（C D Rまたは超可変領域）に対応する配列番号55、配列番号56および配列番号57のポリペプチド配列を1つ以上含むか、あるいはこれよりなる。

10

【0345】

本発明のさらなる実施形態では、N G Fに対する結合特異性を有する抗体のフラグメントは、配列番号53の可変重鎖配列または配列番号402の重鎖配列の相補性決定領域（C D Rまたは超可変領域）に対応する配列番号58、配列番号59および配列番号60のポリペプチド配列を1つ以上含むか、あるいはこれよりなる。

【0346】

また本発明は、本明細書に記載の抗体フラグメントを1つ以上含む抗体フラグメントも企図する。本発明の一実施形態では、N G Fに対する結合特異性を有する抗体のフラグメントは、次に挙げる抗体フラグメントを、そのすべても含め、1つ、2つ、3つまたはそれ以上含むか、あるいはこれよりなる：配列番号51の可変軽鎖領域；配列番号53の可変重鎖領域；配列番号51の可変軽鎖領域の相補性決定領域（配列番号55、配列番号56および配列番号57）；および配列番号53の可変重鎖領域の相補性決定領域（配列番号58、配列番号59および配列番号60）。

20

【0347】

本発明の特に好適な実施形態では、キメラ抗N G F抗体またはヒト化抗N G F抗体は、配列番号401および配列番号402を含むか、あるいはこれよりなり、かつ本明細書に記載の生物活性を少なくとも1つ含む、A b 21である。

【0348】

本発明の特に好適なさらなる実施形態では、抗体フラグメントは、本明細書に記載のN G Fに対する結合特異性を有するF a b（抗原結合）フラグメントを含むか、あるいはこれよりなる。抗体A b 21に関して、F a bフラグメントは、配列番号51の可変軽鎖配列と配列番号53の可変重鎖配列とを含む。本発明のこの実施形態は、N G Fに対する結合特異性を保持した状態での前記F a b内の配列番号51および／または配列番号53に対する付加、欠失および変異をさらに企図する。

30

【0349】

本明細書に記載の本発明の一実施形態（下記）では、A b 21の酵素消化（例えば、パペイン）によりF a bフラグメントを作製してもよい。本発明の別の実施形態では、C H O、N S OもしくはH E K 293細胞などの哺乳動物細胞、真菌、昆虫、植物、または酵母細胞（例えば、二倍体ピキア属（P i c h i a）のような二倍体酵母）その他の酵母菌株などの微生物系での発現により、A b 21またはそのF a bフラグメントのような抗N G F抗体を作製してもよい。適当なピキア（P i c h i a）種としては、特に限定されないが、ピキア・パストリス（P i c h i a p a s t o r i s）が挙げられる。

40

【0350】

抗体フラグメントF a b 1

1つの例示的实施形態では、本発明は、F a b 1と同じまたは重複するエピトープと結合するそのF a bフラグメント、および疼痛または無痛覚症の治療または予防における、単独でのその使用または別の活性作用物質、例えば、N S A I Dもしくはオピオイド鎮痛剤または別の生物製剤とのその併用を提供し、前記F a bフラグメントは、N G FとT r k Aとの結合およびN G Fとp 75との結合を阻害し、かつ／または疼痛を抑制もしくは予防する。一実施形態では、本発明は、N G Fに対する結合特異性を有し、かつ次に記載

50

する配列を含む軽鎖配列を有する、F a b抗体フラグメントを含む：

D I Q M T Q S P S T L S A S V G D R V T I T C Q A S Q S I Y S N L A W Y Q Q K P
G K A P K L L I Y D A S T L E S G V P S R F S G S G S G T E Y T L T I S S L Q P
D D F A T Y Y C Q Q G F T V S D I D N A F G G G T K V E I K R T V A A P S V F I
F P P S D E Q L K S G T A S V V C L L N N F Y P R E A K V Q W K V D N A L Q S G
N S Q E S V T E Q D S K D S T Y S L S S T L T L S K A D Y E K H K V Y A C E V T
H Q G L S S P V T K S F N R G E C（配列番号405）。

【0351】

さらに本発明は、NGFに対する結合特異性を有し、かつ次に記載する配列を含む重鎖配列を有する、F a b抗体フラグメントを含む：

E V Q L V E S G G G L V Q P G G S L R L S C A A S G F T V S N Y A V G W V R Q A
P G K G L E W V G I I G R N G N T W Y A S S A R G R F T I S R D N S K N T L Y L
Q M N S L R A E D T A V Y Y C A R G Y G R S V A Y Y V F N I W G P G T L V T V S
S A S T K G P S V F P L A P S S K S T S G G T A A L G C L V K D Y F P E P V T V
S W N S G A L T S G V H T F P A V L Q S S G L Y S L S S V V T V P S S S L G T Q
T Y I C N V N H K P S N T K V D A R V E P K S C D K T H（配列番号406）。

【0352】

さらに本発明は、配列番号51の可変軽鎖配列もしくは配列番号405の軽鎖配列の相補性決定領域（CDRもしくは超可変領域）に対応する配列番号55、配列番号56および配列番号57のポリペプチド配列を1つ以上、および／または配列番号53の可変重鎖配列もしくは配列番号406の重鎖配列の相補性決定領域（CDRもしくは超可変領域）に対応する配列番号58、配列番号59および配列番号60のポリペプチド配列を1つ以上、または上記ポリペプチド配列の組合せを含む、抗体フラグメントも企図する。本発明の別の実施形態では、本発明の抗体フラグメントは、上記すべてを含めた、上記CDR、可変重鎖および可変軽鎖配列ならびに重鎖および軽鎖配列の1つ以上の組合せを含むか、あるいはこれよりなる。

【0353】

また本発明は、NGFに対する結合特異性を有する抗体のフラグメントも企図する。本発明の一実施形態では、本発明の抗体フラグメントは、配列番号51または配列番号405のポリペプチド配列を含むか、あるいはこれよりなる。本発明の別の実施形態では、本発明の抗体フラグメントは、配列番号53または配列番号406のポリペプチド配列を含むか、あるいはこれよりなる。

【0354】

本発明のさらなる実施形態では、NGFに対する結合特異性を有する抗体のフラグメントは、配列番号51の可変軽鎖配列または配列番号405の軽鎖配列の相補性決定領域（CDRまたは超可変領域）に対応する配列番号55、配列番号56および配列番号57のポリペプチド配列を1つ以上含むか、あるいはこれよりなる。

【0355】

本発明のさらなる実施形態では、NGFに対する結合特異性を有する抗体のフラグメントは、配列番号53の可変重鎖配列または配列番号406の重鎖配列の相補性決定領域（CDRまたは超可変領域）に対応する配列番号58、配列番号59および配列番号60のポリペプチド配列を1つ以上含むか、あるいはこれよりなる。

【0356】

また本発明は、本明細書に記載の抗体フラグメントを1つ以上含む抗体フラグメントも企図する。本発明の一実施形態では、NGFに対する結合特異性を有する抗体のフラグメントは、次に挙げる抗体フラグメントを、そのすべても含め、1つ、2つ、3つまたはそれ以上含むか、あるいはこれよりなる：配列番号51の可変軽鎖領域；配列番号53の可変重鎖領域；配列番号51の可変軽鎖領域の相補性決定領域（配列番号55、配列番号56および配列番号57）；および配列番号53の可変重鎖領域の相補性決定領域（配列番号58、配列番号59および配列番号60）。

【0357】

本発明の特に好適な実施形態では、抗NGF抗体フラグメントは、配列番号405および配列番号406を含み、かつ本明細書に記載の生物活性を少なくとも1つ含む、Fab1である。本発明の一実施形態では、Ab21の酵素消化（例えば、パパイン）により抗体フラグメントFab1を作製してもよい。

【0358】

抗体フラグメントFab2

1つの例示的实施形態では、本発明は、Fab2と同じまたは重複するエピトープと結合するFabフラグメント、および疼痛または無痛覚症の治療または予防における、単独でのその使用または別の活性作用物質、例えば、NSAIDもしくはオピオイド鎮痛剤または別の生物製剤とのその併用を提供し、前記抗体または抗体フラグメントは、NGFとTrkAとの結合およびNGFとp75との結合を阻害し、かつ／または疼痛を抑制もしくは予防する。一実施形態では、本発明は、NGFに対する結合特異性を有し、かつ次に記載する配列を含む軽鎖配列を有する、Fab抗体フラグメントを含む：

D I Q M T Q S P S T L S A S V G D R V T I T C Q A S Q S I Y S N L A W Y Q Q K P
G K A P K L L I Y D A S T L E S G V P S R F S G S G S G T E Y T L T I S S L Q P
D D F A T Y Y C Q Q G F T V S D I D N A F G G G T K V E I K R T V A A P S V F I
F P P S D E Q L K S G T A S V V C L L N N F Y P R E A K V Q W K V D N A L Q S G
N S Q E S V T E Q D S K D S T Y S L S S T L T L S K A D Y E K H K V Y A C E V T
H Q G L S S P V T K S F N R G E C（配列番号407）。

【0359】

さらに本発明は、NGFに対する結合特異性を有し、かつ次に記載する配列を含む重鎖配列を有する、Fab抗体フラグメントを含む：

E V Q L V E S G G G L V Q P G G S L R L S C A A S G F T V S N Y A V G W V R Q A
P G K G L E W V G I I G R N G N T W Y A S S A R G R F T I S R D N S K N T L Y L
Q M N S L R A E D T A V Y Y C A R G Y G R S V A Y Y V F N I W G P G T L V T V S
S A S T K G P S V F P L A P S S K S T S G G T A A L G C L V K D Y F P E P V T V
S W N S G A L T S G V H T F P A V L Q S S G L Y S L S S V V T V P S S S L G T Q
T Y I C N V N H K P S N T K V D A R V E P K S C D K T H（配列番号408）。

【0360】

さらに本発明は、配列番号51の可変軽鎖配列もしくは配列番号407の軽鎖配列の相補性決定領域（CDRもしくは超可変領域）に対応する配列番号55、配列番号56および配列番号57のポリペプチド配列を1つ以上、および／または配列番号53の可変重鎖配列もしくは配列番号408の重鎖配列の相補性決定領域（CDRもしくは超可変領域）に対応する配列番号58、配列番号59および配列番号60のポリペプチド配列を1つ以上、または上記ポリペプチド配列の組合せを含む、抗体フラグメントを企図する。本発明の別の実施形態では、本発明の抗体フラグメントは、上記すべてを含めた、上記CDR、可変重鎖および可変軽鎖配列ならびに重鎖および軽鎖配列の1つ以上の組合せを含むか、あるいはこれよりなる。

【0361】

また本発明は、NGFに対する結合特異性を有する抗体のフラグメントも企図する。本発明の一実施形態では、本発明の抗体フラグメントは、配列番号51または配列番号407のポリペプチド配列を含むか、あるいはこれよりなる。本発明の別の実施形態では、本発明の一実施形態では、本発明の抗体フラグメントは、配列番号53または配列番号408のポリペプチド配列を含むか、あるいはこれよりなる。

【0362】

本発明のさらなる実施形態では、NGFに対する結合特異性を有する抗体のフラグメントは、配列番号51の可変軽鎖配列または配列番号407の軽鎖配列の相補性決定領域（CDRまたは超可変領域）に対応する配列番号55、配列番号56および配列番号57のポリペプチド配列を1つ以上含むか、あるいはこれよりなる。

【0363】

本発明のさらなる実施形態では、NGFに対する結合特異性を有する抗体のフラグメントは、配列番号53の可変重鎖配列または配列番号408の重鎖配列の相補性決定領域（CDRまたは超可変領域）に対応する配列番号58、配列番号59および配列番号60のポリペプチド配列を1つ以上含むか、あるいはこれよりなる。

【0364】

また本発明は、本明細書に記載の抗体フラグメントを1つ以上含む抗体フラグメントも企図する。本発明の一実施形態では、NGFに対する結合特異性を有する抗体のフラグメントは、次に挙げる抗体フラグメントを、そのすべても含め、1つ、2つ、3つまたはそれ以上含むか、あるいはこれよりなる：配列番号51の可変軽鎖領域；配列番号53の可変重鎖領域、配列番号51の可変軽鎖領域の相補性決定領域（配列番号55、配列番号56および配列番号57）；および配列番号53の可変重鎖領域の相補性決定領域（配列番号58、配列番号59および配列番号60）。

10

【0365】

本発明の特に好適な実施形態では、抗NGF抗体フラグメントは、配列番号407および配列番号408を含み、かつ本明細書に記載の生物活性を少なくとも1つ含む、Fab1である。

【0366】

本明細書に記載されている本発明の別の実施形態（下記）では、CHO、NSOもしくはHEK293細胞などの哺乳動物細胞、真菌、昆虫、植物、または酵母細胞（例えば、二倍体ピキア属（*Pichia*）のような二倍体酵母）その他の酵母菌株などの微生物系での発現によりFabフラグメントを作製してもよい。適当なピキア（*Pichia*）種としては、特に限定されないが、ピキア・パストリス（*Pichia pastoris*）が挙げられる。本発明の一実施形態では、本明細書の実施例に記載のプロトコルを用いたピキア・パストリス（*Pichia pastoris*）での発現により、抗体フラグメントFab2を作製してもよい。

20

【0367】

別の実施形態では、抗体フラグメントは、次に挙げる非限定的な形態のうちの1つ以上の形態で存在し得る：Fab、Fab'、F(ab')₂、Fvおよび一本鎖Fvの各抗体の形態。好適な実施形態では、本明細書に記載の抗NGF抗体は、次に記載する配列を含むカッパ定常軽鎖配列をさらに含む：

30

【0368】

V A A P S V F I F P P S D E Q L K S G T A S V V C L L N N F Y P R E A K V Q W
K V D N A L Q S G N S Q E S V T E Q D S K D S T Y S L S S T L T L S K A D Y E K
H K V Y A C E V T H Q G L S S P V T K S F N R G E C（配列番号412）。

【0369】

別の好適な実施形態では、本明細書に記載の抗NGF抗体は、次に記載する配列を含むガンマー1定常重鎖ポリペプチド配列をさらに含む：

【0370】

A S T K G P S V F P L A P S S K S T S G G T A A L G C L V K D Y F P E P V T V
S W N S G A L T S G V H T F P A V L Q S S G L Y S L S S V V T V P S S S L G T Q
T Y I C N V N H K P S N T K V D K R V E P K S C D K T H T C P P C P A P E L L G
G P S V F L F P P K P K D T L M I S R T P E V T C V V V D V S H E D P E V K F N
W Y V D G V E V H N A K T K P R E E Q Y A S T Y R V V S V L T V L H Q D W L N G
K E Y K C K V S N K A L P A P I E K T I S K A K G Q P R E P Q V Y T L P P S R E
E M T K N Q V S L T C L V K G F Y P S D I A V E W E S N G Q P E N N Y K T T P P
V L D S D G S F F L Y S K L T V D K S R W Q Q G N V F S C S V M H E A L H N H Y
T Q K S L S L S P G K（配列番号413）。

40

【0371】

別の実施形態では、本発明は、配列番号3、13、23、33、43、53、63、7

50

3、83、93、103、113、123、133、143、153、163、173、183、193もしくは402またはその変異体から選択されるV_Hポリペプチド配列を含み、かつ配列番号1、11、21、31、41、51、61、71、81、91、101、111、121、131、141、151、161、171、181、191もしくは401またはその変異体から選択されるV_Lポリペプチド配列をさらに含む、単離抗NGF抗体を企図し、ここでは、前記V_HまたはV_Lポリペプチドの1つ以上のフレームワーク残基（FR残基）が別のアミノ酸残基に置換されて、NGFと特異的に結合する抗NGF抗体が生じる。上記変異体は、上記可変ポリペプチドと少なくとも90%、95%、96%、97%、98%または99%同一であり、かつNGFと結合する抗体または抗体フラグメントを生じるものであることが好ましい。本発明は、ヒト化形態およびキメラ形態の上記形態を企図する。キメラ抗体は、IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgG5、IgG6、IgG7、IgG8、IgG9、IgG10、IgG11、IgG12、IgG13、IgG14、IgG15、IgG16、IgG17、IgG18またはIgG19の各定常領域に由来するFcを含み得る。

【0372】

本発明の一実施形態では、抗体またはV_HもしくはV_Lポリペプチドは、本明細書に記載のヒト化工程の開始前に1つ以上のウサギB細胞集団から生じるか、またはそこから選択されるものである。

【0373】

本発明の別の実施形態では、抗NGF抗体およびそのフラグメントは、p75またはTrkAに対する結合特異性を有さない。本発明のさらなる実施形態では、抗NGF抗体およびそのフラグメントは、NGFとp75および／またはTrkAとの結合を阻害する。本発明の別の実施形態では、抗NGF抗体およびそのフラグメントは、NGFとTrkAおよび／またはその多量体との結合を阻害し、かつ／またはその生物学的作用に拮抗する。本発明の別の実施形態では、抗NGF抗体およびそのフラグメントは、NGFとp75および／またはその多量体との結合ならびにNGFとTrkAおよび／またはその多量体との結合を阻害し、かつp75およびTrkAの生物学的作用に拮抗する。本発明の別の実施形態では、抗NGF抗体およびそのフラグメントは、NGFとTrkAおよび／またはその多量体との結合を阻害し、かつNGFとp75との相互作用を大幅に阻害しない。本発明の抗体および抗体フラグメントは、その結合選択性に応じて、p75およびTrkAの1つ以上の生物学的作用に拮抗することが好ましい。

【0374】

本明細書で述べられているように、抗体およびそのフラグメントを翻訳後に修飾して、化学的リンカーのようなエフェクター部分、検出可能な部分、例えば蛍光色素、酵素、基質、生物発光物質、放射性物質および化学発光部分など、または機能的部分、例えばストレプトアビジン、アビジン、ビオチン、細胞毒素、細胞毒性物質および放射性物質などを付加してもよい。さらに、循環時間または半減期に影響を及ぼすために、対象となる抗体および抗体フラグメントをポリエチレングリコール（PEG）のような水溶性ポリマーの直接的または間接的付加などにより修飾してもよい。

【0375】

検出可能な部分に関して、酵素のさらなる例としては、特に限定されないが、西洋ワサビペルオキシダーゼ、アセチルコリンエステラーゼ、アルカリホスファターゼ、β-ガラクトシダーゼおよびルシフェラーゼが挙げられる。蛍光物質のさらなる例としては、特に限定されないが、ローダミン、フルオレセイン、フルオレセインイソチオシアナート、ウンベリフェロン、ジクロロトリアジニルアミン、フィコエリトリンおよびダンシルクロリドが挙げられる。化学発光部分のさらなる例としては、特に限定されないが、ルミノールが挙げられる。生物発光物質のさらなる例としては、特に限定されないが、ルシフェリンおよびエクオリンが挙げられる。放射性物質のさらなる例としては、特に限定されないが、ヨウ素125（¹²⁵I）、炭素14（¹⁴C）、硫黄35（³⁵S）、トリチウム（³H）およびリン32（³²P）が挙げられる。

【0376】

機能的部分に関して、細胞毒性物質の例としては、特に限定されないが、メトトレキサート、アミノプテリン、6-メルカプトプリン、6-チオグアニン、シタラビン、5-フルオロウラシルデカルバジン；アルキル化剤、例えばメクロレタミン、チオエパ（thioepa）クロラムブシル、メルファラン、カルムスチン（BSNU）、マイトマイシンC、ロムスチン（CCNU）、1-メチルニトロソウレア、シクロホスファミド、メクロレタミン、ブスルファン、ジブロモマンニトール、ストレプトゾトシン、マイトマイシンC、シス-ジクロロジアミン白金（II）（DDP）シスプラチンおよびカルボプラチン（パラプラチン）など；ダウノルビシン（以前はダウノマイシン）、ドキソルビシン（アドリアマイシン）、デトルビシン、カルミノマイシン、イダルビシン、エピルビシン、ミトキサントロンおよびピサントレンを含めたアントラサイクリン；ダクチノマイシン（アクチノマイシンD）、ブレオマイシン、カリケアマイシン、ミトラマイシンおよびアントラマイシン（AMC）を含めた抗生物質；ならびに抗有糸分裂物質、例えばビンカアルカロイド、ビンクリスチンおよびビンブラスチンが挙げられる。その他の細胞毒性物質としては、パクリタキセル（タキソール）、リシン、シュードモナスエキソトキシン、ゲムシタビン、サイトカラシンB、グラミシジンD、臭化エチジウム、エメチン、エトポシド、テノポシド、テノポシド、コルヒチン、ジヒドロキシアントラシンジオン、1-デヒドロテストステロン、グルココルチコイド、プロカイン、テトラカイン、リドカイン、プロプラノロール、ピューロマイシン、プロカルバジン、ヒドロキシウレア、アスパラギナーゼ、副腎皮質ステロイド、ミトタン（O, P'-（DDD））、インターフェロンおよび上記細胞毒性物質の混合物が挙げられる。

10

20

【0377】

さらなる細胞毒性物質としては、特に限定されないが、化学療法剤、例えばカルボプラチン、シスプラチン、パクリタキセル、ゲムシタビン、カリケアマイシン、ドキソルビシン、5-フルオロウラシル、マイトマイシンC、アクチノマイシンD、シクロホスファミド、ビンクリスチンおよびブレオマイシンなどが挙げられる。リシン、ジフテリア毒素およびシュードモナス（Pseudomonas）毒素のような植物および細菌由来の毒性酵素をヒト化抗体もしくはキメラ抗体またはその結合フラグメントとコンジュゲートして、細胞型特異的殺作用試薬を作製してもよい（Youleら, Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 77:5483 (1980)；Gillilandら, Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 77:4539 (1980)；Krollickら, Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 77:5419 (1980)）。

30

【0378】

その他の細胞毒性物質としては、Goldenbergにより米国特許第6,653,104号に記載されている細胞毒性リボヌクレアーゼが挙げられる。また本発明の実施形態は、アルファ粒子またはベータ粒子を放射する放射性核種が、錯体形成剤使用の有無に関係なく抗体またはその結合フラグメントと安定に結合している、放射性免疫複合体にも関する。このような放射性核種としては、ベータ放射体、例えばリン-32（³²P）、スカンジウム-47（⁴⁷Sc）、銅-67（⁶⁷Cu）、ガリウム-67（⁶⁷Ga）、イットリウム-88（⁸⁸Y）、イットリウム-90（⁹⁰Y）、ヨウ素-125（¹²⁵I）、ヨウ素-131（¹³¹I）、サマリウム-153（¹⁵³Sm）、ルテチウム-177（¹⁷⁷Lu）、レニウム-186（¹⁸⁶Re）またはレニウム-188（¹⁸⁸Re）など、およびアルファ放射体、例えばアスタチン-211（²¹¹At）、鉛-212（²¹²Pb）、ビスマス-212（²¹²Bi）、ビスマス-213（²¹³Bi）またはアクチニウム-225（²²⁵Ac）などが挙げられる。

40

【0379】

抗体またはその結合フラグメントと検出可能な部分などをコンジュゲートする方法は、当該技術分野で公知であり、例えば、Hunterら, Nature 144:945 (1962)；Davidら, Biochemistry 13:1014 (1974)；

50

Painら, J. Immunol. Meth. 40:219 (1981); および Nygren, J., Histochem. and Cytochem. 30:407 (1982) により記載されている方法などがある。

【0380】

また、半減期または循環時間に影響を及ぼすために、抗体または抗体フラグメントをPEG化などにより修飾してもよい。また、増大したポリペプチドの溶解性、安定性および循環時間 (in vivo 半減期) または減少した免疫原性などのさらなる長所をもたらすために、抗体またはそのフラグメントを化学的に修飾してもよい (米国特許第4, 179, 337号を参照されたい)。誘導体化のための化学的部分は、水溶性ポリマー、例えばポリエチレングリコール、エチレングリコール/プロピレングリコールコポリマー、カルボキシメチルセルロース、デキストラン、ポリビニルアルコールなどから選択され得る。抗体およびそのフラグメントは、分子内のランダムな位置で、または分子内の所定の位置で修飾されていてもよく、また結合した化学的部分を1つ、2つ、3つまたはそれ以上含んでもよい。

【0381】

ポリマーは、任意の分子量であってよく、また分岐していても分岐していなくてもよい。ポリエチレングリコールに関しては、好適な分子量は、操作および製造を容易にするために、約1kDa~約100kDa (「約」という用語は、ポリエチレングリコールの調製の際に、分子の分子量が記載の分子量よりも大きいことも小さいこともあることを意味する) である。所望の治療プロファイル (例えば、所望の徐放持続時間、もしあれば生物活性に対する作用、操作の簡便性、抗原性の程度またはその欠如、および治療用のタンパク質またはアナログに対するポリエチレングリコールの他の既知の作用) に応じて、他の大きさのものをを用いてもよい。例えば、ポリエチレングリコールの平均分子量は、約200、500、1000、1500、2000、2500、3000、3500、4000、4500、5000、5500、6000、6500、7000、7500、8000、8500、9000、9500、10,000、10,500、11,000、11,500、12,000、12,500、13,000、13,500、14,000、14,500、15,000、15,500、16,000、16,500、17,000、17,500、18,000、18,500、19,000、19,500、20,000、25,000、30,000、35,000、40,000、50,000、55,000、60,000、65,000、70,000、75,000、80,000、85,000、90,000、95,000または100,000kDaであってよい。例えば、米国特許第5, 643, 575号; Morpurgoら, Appl. Biochem. Biotechnol. 56:59-72 (1996); Vorobjevら, Nucleosides Nucleotides 18:2745-2750 (1999); および Calicetiら, Bioconj. Chem. 10:638-646 (1999) (その開示は参照により本明細書に組み込まれる) には、分岐ポリエチレングリコールが記載されている。

【0382】

当業者が利用可能な結合方法が多数あり、例えば、参照により本明細書に組み込まれる欧州特許出願公開第0401384号 (PEGとG-CSFの結合) を参照されたい。またMalikら, Exp. Hematol. 20:1028-1035 (1992) (トレスクロリドを用いたGM-CSFのPEG化を報告) も参照されたい。例えば、遊離のアミノ基またはカルボキシル基のような反応基を介して、ポリエチレングリコールをアミノ酸残基により共有結合させてもよい。反応基とは、活性化されたポリエチレングリコール分子が結合し得る基のことである。遊離アミノ基を有するアミノ酸残基としては、リジン残基およびN末端アミノ酸残基が挙げられ、遊離カルボキシル基を有するアミノ酸残基としては、アスパラギン酸残基およびC末端アミノ酸残基が挙げられる。またスルフィドリルもポリエチレングリコール分子を結合させる反応基として使用し得る。治療目的に好適なのは、アミノ基での結合、例えばN末端またはリジン基での結合などである。

【0383】

上に示したように、いくつかあるアミノ酸残基のうち、どのアミノ酸残基と結合させても、ポリエチレングリコールをタンパク質と結合することができる。例えば、リジン、ヒスチジン、アスパラギン酸、グルタミン酸またはシステインの各残基との共有結合により、ポリエチレングリコールをポリペプチドと結合することができる。1つ以上の反応化学を用いて、ポリエチレングリコールを特定のアミノ酸残基（例えば、リジン、ヒスチジン、アスパラギン酸、グルタミン酸またはシステイン）または2種類以上のアミノ酸残基（例えば、リジン、ヒスチジン、アスパラギン酸、グルタミン酸、システインおよびその組合せ）と結合することができる。

【0384】

あるいは、アルブミン（特に限定されないが、組換えヒト血清アルブミンまたはそのフラグメントもしくは変異体（例えば、その内容全体が参照により本明細書に組み込まれる、1999年3月2日に発行された米国特許第5,876,969号、欧州特許第0413622号および1998年6月16日に発行された米国特許第5,766,883号を参照されたい）を含む）またはトランスフェリンもしくはフェリチンのようなその他の循環血中タンパク質との融合により、抗体またはそのフラグメントの *in vivo* 半減期を増加させてもよい。好適な実施形態では、本発明のポリペプチドおよび／または抗体（そのフラグメントまたは変異体を含む）を成熟型のヒト血清アルブミン（すなわち、その内容全体が参照により本明細書に組み込まれる欧州特許第0322094号の図1および2に示されるヒト血清アルブミンのアミノ酸1～585）と融合する。また本発明の融合タンパク質をコードするポリヌクレオチドも本発明に包含される。

【0385】

本明細書に記載の実施形態にはさらに、本明細書に記載の抗体、抗体フラグメント、二特異性抗体、SMIP、キャメルボディ（camel body）、ナノボディ（nanobody）、IgNAR、ポリペプチド、可変領域およびCDRと実質的に相同な変異体および同等物が含まれる。上記のものは、例えば保存的置換変異（すなわち、1つ以上のアミノ酸を類似したアミノ酸で置換すること）を含み得る。例えば、保存的置換は、アミノ酸を同じ一般的クラス内の別のアミノ酸で置換すること、例えば、酸性アミノ酸を別の塩基性アミノ酸で、塩基性アミノ酸を別の酸性アミノ酸で、または中性アミノ酸を別の中性アミノ酸で置換することを指す。保存的アミノ酸置換が意味することは当該技術分野で公知である。

【0386】

別の実施形態では、本発明は、本明細書に記載の抗体フラグメント、可変領域およびCDRのポリペプチド配列のいずれか1つ以上と少なくとも90%以上の配列相同性を有するポリペプチド配列を企図する。より好ましくは、本発明は、本明細書に記載の抗体フラグメント、可変領域およびCDRのポリペプチド配列のいずれか1つ以上と少なくとも95%以上の配列相同性、より好ましくは少なくとも96%、97%または98%以上の配列相同性、さらにより好ましくは少なくとも99%以上の配列相同性を有するポリペプチド配列を企図する。核酸配列とアミノ酸配列の間の相同性を決定する方法は、当業者に公知である。

【0387】

別の実施形態では、本発明はさらに、抗NGF活性をさらに有する本明細書に記載の抗体フラグメント、可変領域およびCDRの上記のポリペプチドホモログを企図する。抗NGF活性の非限定的な例が本明細書に記載されている。

【0388】

別の実施形態では、本発明はさらに、上記配列のいずれかと結合する抗イディオタイプ抗体の作製および使用を企図する。例示的实施形態では、抗NGF抗体を投与した対象にこのような抗イディオタイプ抗体を投与して、抗NGF抗体の作用を調節、低減または中和することができる。またこのような抗イディオタイプ抗体は、抗NGF抗体の存在を特徴とする自己免疫疾患の治療に有用なこともある。このような抗イディオタイプ抗体のさ

10

20

30

40

50

らなる使用例は、本発明の抗NGF抗体を検出して、例えば、対象の血液その他の体液中に存在する抗NGF抗体のレベルをモニターするために使用することである。

【0389】

また本発明は、本明細書に記載の任意の他のポリヌクレオチド配列で置き換えた本明細書に記載の任意のポリペプチド配列またはポリヌクレオチド配列を含む、抗NGF抗体も企図する。例えば、特に限定されないが、本発明は、本明細書に記載の任意の可変軽鎖配列と可変重鎖配列との組み合わせを含む抗体を企図し、さらに、本明細書に記載の任意のCDR配列を本明細書に記載の任意の他のCDR配列で置き換えて得られる抗体を企図する。

【0390】

本発明のさらなる例示的实施形態

別の実施形態では、本発明は、インタクトなヒトNGFポリペプチドもしくはそのフラグメント上にある、Ab1、Ab2、Ab3、Ab4、Ab5、Ab6、Ab7、Ab8、Ab9、Ab10、Ab11、Ab12、Ab13、Ab14、Ab15、Ab16、Ab17、Ab18、Ab19、Ab20もしくはAb21から選択される抗ヒトNGF抗体と同じもしくは重複する直線状エピトープもしくは立体構造エピトープ（1つもしくは複数）と特異的に結合し、かつ／または上記抗ヒトNGF抗体と同じもしくは重複する直線状エピトープもしくは立体構造エピトープ（1つもしくは複数）との結合に関して競合する、1つ以上の抗ヒトNGF抗体またはその抗体フラグメントを企図する。好適な実施形態では、抗ヒトNGF抗体またはそのフラグメントは、インタクトなヒトNGFポリペプチドもしくはそのフラグメント上にある、Ab3、Ab4、Ab5、Ab6、Ab15もしくはAb16と同じ直線状エピトープもしくは立体構造エピトープ（1つもしくは複数）と特異的に結合し、かつ／または上記のものと同じ直線状エピトープもしくは立体構造エピトープ（1つもしくは複数）との結合に関して競合する。

【0391】

本発明の好適な実施形態は、NGFに対する結合特異性を有し、かつNGFとp75受容体およびTrkA受容体との結合により仲介される生物活性を阻害する、キメラ抗体またはヒト化抗体およびそのフラグメント（Fabフラグメントを含む）に関するものである。本発明の特に好適な実施形態では、キメラ抗NGF抗体またはヒト化抗NGF抗体は、Ab1、Ab2、Ab5～Ab14またはAb17～Ab21から選択される。

【0392】

本発明の別の好適な実施形態は、NGFと結合して、NGFとp75受容体との結合により仲介される生物活性を大幅に阻害することなく、NGFとTrkA受容体との結合により仲介される生物活性を選択的に阻害することができる、キメラ抗体またはヒト化抗体およびそのフラグメントに関するものである。本発明の特に好適な実施形態では、キメラ抗NGF抗体またはヒト化抗NGF抗体は、Ab3、Ab4、Ab15またはAb16、あるいは上記のいずれかの抗体と競合する、またはそれと同じもしくは重複するエピトープと結合する、抗体および抗体フラグメントから選択される。本発明のさらなる実施形態は、TrkAによってのみ仲介される生物活性に影響を及ぼし、NGFとp75との結合により仲介される生物活性は避けることにより、NGFに関連する疾患または障害を治療する方法を企図する。一実施形態では、NGFに関連する疾患または障害は疼痛である。NGFに関連する疾患または障害のさらなるリストが本明細書に記載されている。

【0393】

本発明の別の実施形態では、術前および術後に関連する疼痛ならびに外傷または筋骨格の損傷に関連する疼痛を治療する方法において、キメラ抗NGF抗体またはヒト化抗NGF抗体Ab3、Ab4、Ab15もしくはAb16またはそのフラグメント（Fabフラグメントを含む）のうちの1つ以上を用いる。キメラ抗NGF抗体またはヒト化抗NGF抗体Ab3、Ab4、Ab15またはAb16はNGF／p75シグナル伝達経路を阻害しないと考えられるため、上記抗体（およびそのフラグメント）は、筋原性分化および筋肉修復を必要とする患者の疼痛への対処に特に有用である。

【0394】

本発明の別の好適な実施形態では、完全長抗体およびそのFabフラグメントは、歩行分析を用いた評価で、対照で得られた結果に比べ、マウスモデルにおいて*in vivo*で疼痛を有意に低減することができる（本明細書の実施例7に記載されている）。

【0395】

本発明の特に好適な実施形態は、本明細書に開示されるFabポリペプチド配列その他の一価薬剤の使用を、患者の疼痛の治療に使用することを企図する。Fabポリペプチド配列を用いて治療し得る疼痛の非限定的な種類が本開示の他の箇所に記載されている。

【0396】

別の好適な実施形態では、本発明は、完全長抗体と比べて実質的に患者の炎症を増大させない、本明細書に記載の完全長抗体のFabフラグメントを企図する。また本発明は、同じ濃度で投与した完全長抗体と比べて実質的に患者の炎症を増大させない本明細書に記載の完全長抗体のFabフラグメントを投与することにより、疼痛に罹患している患者を治療する方法も企図する。本発明の特に好適な実施形態では、Fabフラグメント（1つまたは複数）は、配列番号405または配列番号407の軽鎖ポリペプチド配列と配列番号406または配列番号408の重鎖ポリペプチド配列とを含む。

【0397】

本発明の特に好適な実施形態では、実質的に患者の炎症を増大させることなく前記患者の疼痛を治療する方法において一価薬剤を用いる。一価薬剤の例としては、特に限定されないが、Fab、Fab'、Fv、scFvの各フラグメント、MetMab様一価薬剤、SMIPs（小分子免疫薬剤（small molecule immunopharmaceuticals））、キャメルボディ（camel body）、ナノボディ（nanobody）、IgNARまたはその1つ以上の組合せが挙げられる。

【0398】

本発明の別の実施形態では、NGFに対する結合特異性を有するキメラ抗NGF抗体またはヒト化抗NGF抗体およびそのフラグメント（Fabフラグメントを含む）は、TF1細胞の増殖を阻害する。本発明の別の実施形態では、NGFに対する結合特異性を有するキメラ抗NGF抗体またはヒト化抗NGF抗体およびそのフラグメント（Fabフラグメントを含む）は、PC-12の神経突起伸長を阻害する。

【0399】

本発明の別の実施形態では、抗ヒトNGF抗体は、インタクトなNGFポリペプチドまたはそのフラグメント上にあって、天然のヒトNGFポリペプチド全長に及ぶ重複する直線状ペプチドフラグメントを用いたエピトープマッピングにより確認される、Ab3、Ab4、Ab15またはAb16が特異的に結合するのと同じまたは重複する直線状エピトープまたは立体構造エピトープと特異的に結合する抗体である。

【0400】

また本発明は、Ab1、Ab2、Ab3、Ab4、Ab5、Ab6、Ab7、Ab8、Ab9、Ab10、Ab11、Ab12、Ab13、Ab14、Ab15、Ab16、Ab17、Ab18、Ab19、Ab20またはAb21から選択される抗NGF抗体を含むがこれに限定されない、本明細書に開示される抗体または抗体フラグメントと同じまたは重複するNGFエピトープと結合し、かつ／またはNGFに関して抗NGF抗体と競合する、抗NGF抗体にも関する。

【0401】

別の実施形態では、本発明は、配列3、13、23、33、43、53、63、73、83、93、103、113、123、133、143、153、163、173、183、193もしくは402またはその変異体から選択されるV_Hポリペプチド配列に含まれるCDRを1つ以上、および／あるいは配列1、11、21、31、41、51、61、71、81、91、101、111、121、131、141、151、161、171、181、191もしくは401またはその変異体から選択されるV_Lポリペプチド配列に含まれるCDRを1つ以上含む、単離された抗NGF抗体または抗体フラグメントに

10

20

30

40

50

も関する。

【0402】

本発明の一実施形態では、上述の抗ヒトNGF抗体は、Ab1、Ab2、Ab3、Ab4、Ab5、Ab6、Ab7、Ab8、Ab9、Ab10、Ab11、Ab12、Ab13、Ab14、Ab15、Ab16、Ab17、Ab18、Ab19、Ab20またはAb21からなる群より選択される抗ヒトNGF抗体に含まれるものと同一の相補性決定領域(CDR)を、各可変領域および可変重領域に少なくとも2つ含む。

【0403】

好適な実施形態では、上述の抗ヒトNGF抗体は、Ab3、Ab4、Ab5またはAb6に含まれるものと同一の相補性決定領域(CDR)を、各可変軽領域および可変重領域に少なくとも2つ含む。別の実施形態では、上述の抗ヒトNGF抗体のCDRはすべて、Ab1、Ab2、Ab3、Ab4、Ab5、Ab6、Ab7、Ab8、Ab9、Ab10、Ab11、Ab12、Ab13、Ab14、Ab15、Ab16、Ab17、Ab18、Ab19、Ab20またはAb21から選択される抗ヒトNGF抗体に含まれるCDRと同一である。本発明の好適な実施形態では、上述の抗ヒトNGF抗体のCDRはすべて、Ab3、Ab4、Ab5またはAb6から選択される抗ヒトNGF抗体に含まれるCDRと同一である。

【0404】

さらに本発明は、上述の1つ以上の抗ヒトNGF抗体が、グリコシル化されていない；エフェクター機能、半減期、タンパク質分解および／またはグリコシル化が変化するように修飾したFc領域を含む；ヒト抗体、ヒト化抗体、一本鎖抗体またはキメラ抗体である；ならびにウサギ(親)抗ヒトNGF抗体に由来するヒト化抗体であることを企図する。

【0405】

さらに本発明は、1つ以上の抗ヒトNGF抗体を企図し、ここでは、前記抗体の可変軽領域および可変重領域のフレームワーク領域(FR)がそれぞれ、未修飾であるか、可変軽鎖領域または重鎖領域の最大2個または3個のヒトFR残基を対応する親ウサギ抗体のFR残基で置換することにより修飾されたヒトFRであり、かつ前記ヒトFRが、ヒト生殖系列抗体配列のライブラリーに含まれる他のヒト生殖系列抗体配列に比べて、対応するウサギ可変重鎖および軽鎖領域との相同性のレベルが高いことに基づき、そのライブラリーから選択されたヒト可変重鎖および軽鎖抗体配列に由来するものである。

【0406】

本発明の一実施形態では、抗ヒトNGF抗体またはフラグメントは、NGF発現ヒト細胞と、および／またはNGFを発現する細胞に関連する疾患を有する患者のヒト細胞上で発現されるか、それにより発現されるNGFを含めた、循環中の可溶性NGF分子と、*in vivo*で特異的に結合する。

【0407】

別の実施形態では、疾患は、炎症性疼痛、切開術後の疼痛、複合性局所痛症候群、癌性疼痛、原発性または転移性骨癌疼痛、骨折痛、骨粗鬆症性骨折による疼痛、熱傷、骨粗鬆症による疼痛、痛風関節痛、鎌状赤血球発作に関連する疼痛その他の侵害受容性疼痛、および肝細胞癌性、乳癌性、肝硬変性、神経原性の疼痛、神経障害性疼痛、侵害受容性疼痛、三叉神経痛、ヘルペス後神経痛、幻肢痛、線維筋痛、月経痛、卵巣痛、反射性交感神経性ジストロフィー、神経原性疼痛、変形性関節症もしくは関節リウマチによる疼痛、腰痛、糖尿病性ニューロパチー、坐骨神経痛または片頭痛から選択される。

【0408】

さらに本発明は、検出可能な標識または治療剤と直接的または間接的に結合した抗ヒトNGF抗体またはフラグメントを企図する。

【0409】

また本発明は、上記抗ヒトNGF抗体または抗体フラグメントの発現を生じる、酵母またはヒトの好適なコドンを含むか、あるいはこれよりなる核酸配列を含めた1つ以上の核酸配列も企図する。また本発明は、前記核酸配列(1つまたは複数)を含むベクター(プ

10

20

30

40

50

ラスミドまたは組換えウイルスベクターを含む)も企図する。また本発明は、上記抗体を少なくとも1つ発現する、哺乳動物、酵母、細菌、植物および昆虫の細胞を含めた宿主細胞または組換え宿主細胞も企図する。好適な実施形態では、宿主細胞は酵母細胞である。さらなる好適な実施形態では、酵母細胞は二倍体の酵母細胞である。より好適な実施形態では、酵母細胞はピキア(P*i*ch*i*a)酵母である。

【0410】

また本発明は、治療有効量の本明細書に記載の少なくとも1つの抗ヒトNGF抗体またはフラグメントを、NGF発現細胞に関連する疾患または状態を有する患者に投与することを含む治療方法も企図する。また本発明は、治療方法が、本明細書に開示される2つ以上の抗NGF抗体またはそのフラグメントを投与することを含み得ることも企図する。患者に2つ以上の抗体を投与する場合、複数の抗体を同時に投与しても、時間をずらして投与してもよい。治療され得る疾患は、非限定的なリストとして上および本明細書の他の箇所に記載されている。好適な実施形態では、疾患は癌性疼痛または神経障害性疼痛から選択される。特に好適な実施形態では、疾患は癌性疼痛である。別の実施形態では、治療は、化学療法、放射線療法、サイトカイン投与または遺伝子治療から選択される別の治療剤投与または計画の実施をさらに含む。

【0411】

本発明の非限定的な実施形態では、別の治療剤または計画としては、タキソール(パクリタキセル)またはその誘導体、カルボプラチンまたはシスプラチンのような白金化合物、ドキソルビシンのようなアントラサイクリン、シクロホスファミドのようなアルキル化剤、5-フルオロウラシルまたはエトポシドのような抗代謝産物が挙げられる。

【0412】

さらに本発明は、NGFを発現する細胞の存在を検出する*in vivo*イメージングの方法を企図し、この方法は、診断上有効な量の少なくとも1つの抗ヒトNGF抗体を投与することを含む。一実施形態では、前記投与は、NGFを発現している疾患部位での抗体の検出を容易にする放射性核種またはフルオロフォアの投与をさらに含む。本発明の別の実施形態では、*in vivo*イメージングの方法を用いて、NGFを発現している腫瘍もしくは転移、またはNGFと結合することができるTrkAおよび/もしくはp75を発現している腫瘍もしくは転移を検出する。さらなる実施形態では、前記*in vivo*イメージングの方法の結果を用いて、放射線療法、化学療法またはそれらの組合せを含む治療計画を含めた適切な治療計画の設計を容易にする。

【0413】

抗NGF抗体ポリペプチドをコードするポリヌクレオチド
抗体Ab1

別の実施形態では、本発明はさらに、NGFとTrkAとの結合およびNGFとTrkAとの結合を阻害する抗NGF抗体およびそのフラグメントをコードするポリヌクレオチドに関する。さらに本発明は、NGFに対する結合特異性を有する抗体ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドに関する。本発明の一実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、配列番号1の可変軽鎖ポリペプチド配列をコードする次のようなポリヌクレオチド配列を含むか、あるいはこれよりなる：

【0414】

G C C C T T T G T G A T G A C C C A G A C T C C A T C C T C C G T G T C T G C A
G C T G T G G G A G G C A C A G T C A C C A T C A A T T G C C A G G C C A G T C
A G A A C A T T T T A C A G C A A T T T A G C C T G G T A T C A A C A G A G A C C
A G G G C A G C G T C C C A A G C T C C T G A T C T A T G G T G C A T C C A A T
C T G G A T G C T G G G G T C C C A T C G C G G T T C A G A G G C A G T G G A T
C T G G G A C A G A G T A C A C T C T C A C C A T C A G C G A C C T G G A G T G
T G A C G A T G T T G G C A C T T A C T A C T G T C A A A G T G C T T T T G A T
A G T G A T A G T A C T G A A A A T A C T T T C G G C G G A G G G A C C G A G G
T G G T G G T C A A A C G T (配列番号201)。

【0415】

本発明の一実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、配列番号2の軽鎖ポリペプチド配列をコードする次のようなポリヌクレオチド配列を含むか、あるいはこれよりなる：

【0416】

G C C C T T G T G A T G A C C C A G A C T C C A T C C T C C G T G T C T G C A
G C T G T G G G A G G C A C A G T C A C C A T C A A T T G C C A G G C C A G T C
A G A A C A T T T A C A G C A A T T T A G C C T G G T A T C A A C A G A G A C C
A G G G C A G C G T C C C A A G C T C C T G A T C T A T G G T G C A T C C A A T
C T G G A T G C T G G G G T C C C A T C G C G G T T C A G A G G C A G T G G A T
C T G G G A C A G A G T A C A C T C T C A C C A T C A G C G A C C T G G A G T G
T G A C G A T G T T G G C A C T T A C T A C T G T C A A A G T G C T T T T G A T
A G T G A T A G T A C T G A A A A T A C T T T C G G C G G A G G G A C C G A G G
T G G T G G T C A A A C G T A C G G T A G C G G C C C C A T C T G T C T T C A T
C T T C C C G C C A T C T G A T G A G C A G T T G A A A T C T G G A A C T G C C
T C T G T T G T G T G C C T G C T G A A T A A C T T C T A T C C C A G A G A G G
C C A A A G T A C A G T G G A A G G T G G A T A A C G C C C T C C A A T C G G G
T A A C T C C C A G G A G A G T G T C A C A G A G C A G G A C A G C A A G G A C
A G C A C C T A C A G C C T C A G C A G C A C C C T G A C G C T G A G C A A A G
C A G A C T A C G A G A A A C A C A A A G T C T A C G C C T G C G A A G T C A C
C C A T C A G G G C C T G A G C T C G C C C G T C A C A A A G A G C T T C A A C
A G G G G A G A G T G T T A G (配列番号202)。

10

20

【0417】

本発明の別の実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、配列番号3の可変重鎖ポリペプチド配列をコードする次のようなポリヌクレオチド配列を含むか、あるいはこれよりなる：

【0418】

C A G T C G C T G G A G G A G T C C G G G G G T C G C C T G G T C A C G C C T
G G G A C A C C C C T G A C A C T C A C C T G C A C A G T C T C T G G C T T C T
C C C T C A G T A G C T A T G C A A T G A G C T G G G T C C G C C A G G C T C C
A G G G A A G G G G C T G G A A T G G A T C G G A G T C A T T A C T A G T A T T
G G T A G C A C A G T C T A C G C G A G C T G G G C G A A A G G C C G A T T C A
C C A T C T C C A A A A C C T C G A C C A C G G T G G A T C T G A A A A T C A C
C A G T C C G A C A A C C G A G G A C A C G G C C A C C T A T T T C T G T G C C
A G A G G C T A C G A T G A C T A T G A T G A G A T G A C C T A C T T T A A C A
T C T G G G G C C A G G G G A C C C T C G T C A C C G T C T C G A G C (配列番号
203)。

30

【0419】

本発明の一実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、配列番号4の重鎖ポリペプチド配列をコードする次のようなポリヌクレオチド配列を含むか、あるいはこれよりなる：

C A G T C G C T G G A G G A G T C C G G G G G T C G C C T G G T C A C G C C T G
G G A C A C C C C T G A C A C T C A C C T G C A C A G T C T C T G G C T T C T C
C C T C A G T A G C T A T G C A A T G A G C T G G G T C C G C C A G G C T C C A
G G G A A G G G G C T G G A A T G G A T C G G A G T C A T T A C T A G T A T T G
G T A G C A C A G T C T A C G C G A G C T G G G C G A A A G G C C G A T T C A C
C A T C T C C A A A A C C T C G A C C A C G G T G G A T C T G A A A A T C A C C
A G T C C G A C A A C C G A G G A C A C G G C C A C C T A T T T C T G T G C C A
G A G G C T A C G A T G A C T A T G A T G A G A T G A C C T A C T T T A A C A T
C T G G G G C C A G G G G A C C C T C G T C A C C G T C T C G A G C G C C T C C
A C C A A G G G C C C A T C G G T C T T C C C C C T G G C A C C C T C C T C C A
A G A G C A C C T C T G G G G G C A C A G C G G C C C T G G G C T G C C T G G T

40

50

CAAGGACTACTTCCCGAACC GG TGACGGTGTCGTGGAAC
TCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGACACACCTTCCCGGCTGT
TCCTACAGTCCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGT
GACCGGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCAACCCAGACCTACATC
TGCAACGTGAATCACAAAGCCCAAGCAACACCAAGGTGGACA
AGAGAGTTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACATG
CCCACCGTGGCCAGCACCTGAACCTCCTGGGGGGACCGTCA
GTCTTTCCTCTTCCCCCAAACCCCAAGGACACCCCTCATGA
TCTCCCGGACCCCTGAGGTCAACATGCGTGGTGGTGGACGT
GAGCCACGAAGACCCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTG
GACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGG
AGGAGCAGTACGCCAGCACGTACCGTGTGGTCAAGCGTCCCT
CACCGTCCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTAC
AAGTGCAAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAAGCCCCCATCG
AGAAAACCATCTCCAAGGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCC
ACAGGTGTACACCCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACC
AAGAACCAAGGTCAGCCTGACCTGCCCTGGTCAAAGGCTTCT
ATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCA
GCCGGAGAAACAACCTACAAGACCAACGCCCTCCCGTGTGGAC
TCCGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGG
ACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTC
CGTGATGCATGAGGCTCTGCACAAACCACTACACGCAGAA
AGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAATGA (配列番号204)。

10

20

【0420】

本発明のさらなる実施形態では、NGFに対する結合特異性を有する抗体フラグメントをコードするポリヌクレオチドは、配列番号1の軽鎖可変配列または配列番号2の軽鎖配列の相補性決定領域(CDRまたは超可変領域)をコードするポリヌクレオチドに対応する配列番号205、配列番号206および配列番号207のポリヌクレオチド配列を1つ以上含むか、あるいはこれよりなる。

【0421】

本発明のさらなる実施形態では、NGFに対する結合特異性を有する抗体フラグメントをコードするポリヌクレオチドは、配列番号3の重鎖可変配列または配列番号4の重鎖配列の相補性決定領域(CDRまたは超可変領域)をコードするポリヌクレオチドに対応する配列番号208、配列番号209および配列番号210のポリヌクレオチド配列を1つ以上含むか、あるいはこれよりなる。

【0422】

また本発明は、本明細書に記載の抗体フラグメントをコードするポリヌクレオチド配列を1つ以上含むポリヌクレオチド配列も企図する。本発明の一実施形態では、NGFに対する結合特異性を有する抗体フラグメントをコードするポリヌクレオチドは、抗体フラグメントをコードする次のようなポリヌクレオチドを、そのすべても含め、1つ、2つ、3つまたはそれ以上含むか、あるいはこれよりなる：配列番号1の軽鎖可変配列をコードするポリヌクレオチド配列番号201；配列番号2の軽鎖配列をコードするポリヌクレオチド配列番号202；配列番号3の重鎖可変配列をコードするポリヌクレオチド配列番号203；配列番号4の重鎖配列をコードするポリヌクレオチド配列番号204；配列番号1の軽鎖可変配列または配列番号2の軽鎖配列の相補性決定領域をコードするポリヌクレオチド(配列番号205、配列番号206および配列番号207)；および配列番号3の重鎖可変配列または配列番号4の重鎖配列の相補性決定領域をコードするポリヌクレオチド(配列番号208、配列番号209および配列番号210)。

30

40

【0423】

本発明の好適な実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、NGFに対する結合特異

50

性を有する Fab（抗原結合フラグメント）フラグメントをコードするポリヌクレオチドを含むか、あるいはこれよりなる。抗体 Ab1 に関して、完全長 Ab1 抗体をコードするポリヌクレオチドは、配列番号 2 の軽鎖配列をコードするポリヌクレオチド配列番号 202 および配列番号 4 の重鎖配列をコードするポリヌクレオチド配列番号 204 を含むか、あるいはこれよりなる。

【0424】

本発明の別の実施形態は、CHO、NSO、HEK-293 などの哺乳動物細胞で、または真菌、昆虫、植物で、または酵母ピキア（*Pichia*）のような酵母細胞などの微生物系で発現させるために発現ベクター内に組み込んだ、上記ポリヌクレオチドを企図する。適当なピキア（*Pichia*）種としては、特に限定されないが、ピキア・パストリス（*Pichia pastoris*）が挙げられる。本明細書に記載の本発明の一実施形態（下記）では、適当な宿主内で完全長ポリヌクレオチドを発現させた後に、Ab1 の酵素消化（例えば、パパイン）により Fab フラグメントを作製してもよい。本発明の別の実施形態では、CHO、NSO もしくは HEK293 細胞などの哺乳動物細胞、真菌、昆虫、植物、または酵母細胞（例えば、二倍体ピキア属（*Pichia*）のような二倍体酵母）その他の酵母菌株などの微生物系での Ab1 ポリヌクレオチドの発現により、Ab1 またはその Fab フラグメントのような抗 NGF 抗体を作製してもよい。適当なピキア（*Pichia*）種としては、特に限定されないが、ピキア・パストリス（*Pichia pastoris*）が挙げられる。

【0425】

抗体 Ab2

別の実施形態では、さらに本発明は、NGF と TrkA との結合および NGF と TrkA との結合を阻害する抗 NGF 抗体およびそのフラグメントをコードするポリヌクレオチドに関する。さらに本発明は、NGF に対する結合特異性を有する抗体ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドに関する。本発明の一実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、配列番号 11 の可変軽鎖ポリペプチド配列をコードする次のようなポリヌクレオチド配列を含むか、あるいはこれよりなる：

【0426】

GACATCCAGATGACCCAGTCTCCTTCCACCCCTGTCTGCA
TCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTGCCAGGCCAGTCA
AGAACATTTACAGCAACTTAGCCTGGTATCAGCAGAAACC
AGGAAAAGCCCCCTAAGCTCCTGATCTATGGTGCATCCCAAT
CTGGATGCTGGAGTCCCATCAAGGTTCTCTGGCAGTGGAT
CTGGGACAGAGTACACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAGCC
TGATGATTTTGCACCTTACTACTGCCAAAGTGCTTTTGAT
AGTGATAGTACTGAAAACACTTTTCGGCGGAGGAACCAAGG
TGGAATTCAAACGT（配列番号 211）。

【0427】

本発明の一実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、配列番号 12 の軽鎖ポリペプチド配列をコードする次のようなポリヌクレオチド配列を含むか、あるいはこれよりなる：

【0428】

GACATCCAGATGACCCAGTCTCCTTCCACCCCTGTCTGCA
TCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTGCCAGGCCAGTCA
AGAACATTTACAGCAACTTAGCCTGGTATCAGCAGAAACC
AGGAAAAGCCCCCTAAGCTCCTGATCTATGGTGCATCCCAAT
CTGGATGCTGGAGTCCCATCAAGGTTCTCTGGCAGTGGAT
CTGGGACAGAGTACACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAGCC
TGATGATTTTGCACCTTACTACTGCCAAAGTGCTTTTGAT
AGTGATAGTACTGAAAACACTTTTCGGCGGAGGAACCAAGG

TGGAAATCAAACGTACGGTAGCGGGCCCCATCTGTCTTCAAT
CTTCCCGGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAACCTGCC
TCTGTTGTGTGCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGG
CCAAAGTACAGTGGAAAGGTGGATAAACGCCCTCCAAATCGGG
TAACTCCCAGGAGAGTGTACACAGAGCAGGACAGCAAGGAC
AGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCCTGACGCTGAGCAAAAG
CAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCCTGCGAAGTCAAC
CCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCCGTCAACAAAGAGCTTCAAC
AGGGGAGAGTGTTAG (配列番号212)。

【0429】

10

本発明の別の実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、配列番号13の可変重鎖ポリペプチド配列をコードする次のようなポリヌクレオチド配列を含むか、あるいはこれよりなる：

【0430】

GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCCAG
CCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGAT
TCACCGTCAGTAGCTATGCAATGAGCTGGGTCCGTCAAGGC
TCCAGGGAAGGGGGCTGGAGTGGGTTCGGAGTCACTTAGT
ATTGGTAGCACAGTCTACGCGAGCAGCGCGAAAGGCCGAT
TCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACCCTGTATCT
TCAAAATGAACAGCCTGAGAGCTGAGGACACTGCTGTGTAT
TACTGTGCTAGAGGCTACGATGACTATGATGAGATGACCT
ACTTTAACATCTGGGGGCCAAGGGACCCCTCGTCAACCGTCTC
GAGC (配列番号213)。

20

【0431】

本発明の一実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、配列番号14の重鎖ポリペプチド配列をコードする次のようなポリヌクレオチド配列を含むか、あるいはこれよりなる：

GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCCAGC
CTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATT
CACCGTCAGTAGCTATGCAATGAGCTGGGTCCGTCAAGGCT
CCAGGGAAGGGGGCTGGAGTGGGTTCGGAGTCACTTAGTA
TTGGTAGCACAGTCTACGCGAGCAGCGCGAAAGGCCGATT
CACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACCCTGTATCTTT
CAAAATGAACAGCCTGAGAGCTGAGGACACTGCTGTGTATTT
ACTGTGCTAGAGGCTACGATGACTATGATGAGATGACCTA
CTTTAACATCTGGGGGCCAAGGGACCCCTCGTCAACCGTCTCG
AGCGCCTTCCACCAAGGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCAC
CCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGGCACAGCGGCCCTGGG
CTGCCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTG
TCGTGGAACCTCAGGCGGCCCTGACCAGCGGCGTGACACACCT
TCCCGGGCTGTCTTACAGTCTTCAAGGACTCTACTCCCTCAG
CAGCGTGGTGACCGTGCCTTCCAGCAGCTTGGGCACCCAG
ACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAAGCCAGCAACACCA
AGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAAC
TCACACATGCCCAACCGTGCCTCAGCACCTGAACCTCTGGGG
GGACCGTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAAACCCAAAGGACA
CCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCAACATGCGTGGT
GGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCCTGAGGTCAAGTTCAAC
TGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAA

30

40

50

A G C C G C G G G A G G A G C A G T A C G C C A G C A C G T A C C G T G T G G T
C A G C G T C C T C A C C G T C C T G C A C C A G G A C T G G C T G A A T G G C
A A G G A G T A C A A G T G C A A G G T C T C C A A C A A A G C C C T C C C A G
C C C C C A T C G A G A A A C C A T C T C C A A A G C C A A A G G G C A G C C
C C G A G A A C C A C A G G T G T A C A C C C T G C C C C C A T C C C G G G A G
G A G A T G A C C A A G A A C C A G G T C A G C C T G A C C T G C C T G G T C A
A A G G C T T C T A T C C C A G C G A C A T C G C C G T G G A G T G G G A G A G
C A A T G G G C A G C C G G A G A A C A A C T A C A A G A C C A C G C C T C C C
G T G C T G G A C T C C G A C G G C T C C T T C T T C C T C T A C A G C A A G C
T C A C C G T G G A C A A G A G C A G G T G G C A G C A G G G A A C G T C T T
C T C A T G C T C C G T G A T G C A T G A G G C T C T G C A C A A C C A C T A C
A C G C A G A A G A G C C T C T C C C T G T C T C C G G G T A A A T G A (配列番
号 2 1 4)。

10

【0432】

本発明のさらなる実施形態では、NGFに対する結合特異性を有する抗体フラグメントをコードするポリヌクレオチドは、配列番号11の軽鎖可変配列または配列番号12の軽鎖配列の相補性決定領域(CDRまたは超可変領域)をコードするポリヌクレオチドに対応する配列番号215、配列番号216および配列番号217のポリヌクレオチド配列を1つ以上含むか、あるいはこれよりなる。

【0433】

20

本発明のさらなる実施形態では、NGFに対する結合特異性を有する抗体フラグメントをコードするポリヌクレオチドは、配列番号13の重鎖可変配列または配列番号14の重鎖配列の相補性決定領域(CDRまたは超可変領域)をコードするポリヌクレオチドに対応する配列番号218、配列番号219および配列番号220のポリヌクレオチド配列を1つ以上含むか、あるいはこれよりなる。

【0434】

また本発明は、本明細書に記載の抗体フラグメントをコードするポリヌクレオチド配列を1つ以上含むポリヌクレオチド配列も企図する。本発明の一実施形態では、NGFに対する結合特異性を有する抗体フラグメントをコードするポリヌクレオチドは、抗体フラグメントをコードする次のようなポリヌクレオチドを、そのすべても含め、1つ、2つ、3つまたはそれ以上含むか、あるいはこれよりなる：配列番号11の軽鎖可変配列をコードするポリヌクレオチド配列番号211；配列番号12の軽鎖配列をコードするポリヌクレオチド配列番号212；配列番号13の重鎖可変配列をコードするポリヌクレオチド配列番号213；配列番号14の重鎖配列をコードするポリヌクレオチド配列番号214、配列番号11の軽鎖可変配列または配列番号12の軽鎖配列の相補性決定領域をコードするポリヌクレオチド(配列番号215、配列番号216および配列番号217)；および配列番号13の重鎖可変配列または配列番号14の重鎖配列の相補性決定領域をコードするポリヌクレオチド(配列番号218、配列番号219および配列番号220)。

30

【0435】

本発明の好適な実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、NGFに対する結合特異性を有するFab(抗原結合フラグメント)フラグメントをコードするポリヌクレオチドを含むか、あるいはこれよりなる。抗体Ab2に関して、完全長Ab2抗体をコードするポリヌクレオチドは、配列番号12の軽鎖配列をコードするポリヌクレオチド配列番号212および配列番号14の重鎖配列をコードするポリヌクレオチド配列番号214を含むか、あるいはこれよりなる。

40

【0436】

本発明の別の実施形態は、CHO、NSO、HEK-293などの哺乳動物細胞で、または真菌、昆虫、植物で、または酵母ピキア(Pichia)のような酵母細胞などの微生物系で発現させるために発現ベクター内に組み込んだ、上記ポリヌクレオチドを企図する。適当なピキア(Pichia)種としては、特に限定されないが、ピキア・パストリ

50

ス (*P i c h i a p a s t o r i s*) が挙げられる。本明細書に記載の本発明の一実施形態 (下記) では、適当な宿主内で完全長ポリヌクレオチドを発現させた後に、A b 2 の酵素消化 (例えば、パパイン) により F a b フラグメントを作製してもよい。本発明の別の実施形態では、C H O、N S O もしくは H E K 2 9 3 細胞などの哺乳動物細胞、真菌、昆虫、植物、または酵母細胞 (例えば、二倍体ピキア属 (*P i c h i a*) のような二倍体酵母) その他の酵母菌株などの微生物系での A b 2 ポリヌクレオチドの発現により、A b 2 またはその F a b フラグメントのような抗 N G F 抗体を作製してもよい。適当なピキア (*P i c h i a*) 種としては、特に限定されないが、ピキア・パストリス (*P i c h i a p a s t o r i s*) が挙げられる。

【0437】

10

抗体 A b 3

別の実施形態では、さらに本発明は、N G F と T r k A との結合を阻害し、かつ N G F と T r k A との結合に大幅な影響を及ぼさない抗 N G F 抗体およびそのフラグメントをコードするポリヌクレオチドに関する。さらに本発明は、N G F に対する結合特異性を有する抗体ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドに関する。本発明の一実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、配列番号 2 1 の可変軽鎖ポリペプチド配列をコードする次のようなポリヌクレオチド配列を含むか、あるいはこれよりなる：

【0438】

G C A G C C C G T G C T G A C C C A G A C A C C A T C G C C C G T G T C T G C A
G C T A T G G G A G A C A C A G T C A C C A T C A A G T G C C A G T C C A G T C
A G A G T G T T T A T A A G A A C A A C T A C T T A T C C T G G T A T C A G C A
G A A A C C A G G G C A G C C T C C C A G G C T C C T G A T C T A T G A T G C A
T C C A A T C T G C C A T C T G G G G T C C C A T C A C G G T T C A G C G G C A
G T G G A T C T G G G A C A C A G T T C A C T C T C A C C A T C A G C G G C G T
G C A G T G T G A C G A T G C T G C C A C T T A C T A C T G T C T A G G C G A T
T A T G A T G A T G A T G C T G A T A A T G C T T T C G G C G G A G G G A C C G
A G G T G G T G G T C A A A C G T (配列番号 2 2 1)。

20

【0439】

本発明の一実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、配列番号 2 2 の軽鎖ポリペプチド配列をコードする次のようなポリヌクレオチド配列を含むか、あるいはこれよりなる：

30

【0440】

G C A G C C C G T G C T G A C C C A G A C A C C A T C G C C C G T G T C T G C A
G C T A T G G G A G A C A C A G T C A C C A T C A A G T G C C A G T C C A G T C
A G A G T G T T T A T A A G A A C A A C T A C T T A T C C T G G T A T C A G C A
G A A A C C A G G G C A G C C T C C C A G G C T C C T G A T C T A T G A T G C A
T C C A A T C T G C C A T C T G G G G T C C C A T C A C G G T T C A G C G G C A
G T G G A T C T G G G A C A C A G T T C A C T C T C A C C A T C A G C G G C G T
G C A G T G T G A C G A T G C T G C C A C T T A C T A C T G T C T A G G C G A T
T A T G A T G A T G A T G C T G A T A A T G C T T T C G G C G G A G G G A C C G
A G G T G G T G G T C A A A C G T A C G G T A G C G G C C C A T C T G T C T T
C A T C T T C C C G C C A T C T G A T G A G C A G T T G A A A T C T G G A A C T
G C C T C T G T T G T G T G C C T G C T G A A T A A C T T C T A T C C C A G A G
A G G C C A A A G T A C A G T G G A A G G T G G A T A A C G C C C T C C A A T C
G G G T A A C T C C C A G G A G A G T G T C A C A G A G C A G G A C A G C A A G
G A C A G C A C C T A C A G C C T C A G C A G C A C C C T G A C G C T G A G C A
A A G C A G A C T A C G A G A A A C A C A A A G T C T A C G C C T G C G A A G T
C A C C C A T C A G G G C C T G A G C T C G C C C G T C A C A A A G A G C T T C
A A C A G G G G A G A G T G T T A G (配列番号 2 2 2)。

40

【0441】

50

本発明の別の実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、配列番号 23 の可変重鎖ポリペプチド配列をコードする次のようなポリヌクレオチド配列を含むか、あるいはこれよりなる：

【0442】

CAGTCCGGTGGAGGAGTCCGGGGGTCCGCTGGTCAACGCCCT
GGGACACCCCTGACACTCACCTGCACAGTCTCTGGATTCTT
CCTCAGTAGCTATGTAATGATCTGGGTCCGCCAGGCTCC
AGGGAAGGGGCTGGAATACATCGGAATCACTTGGAGTGTCT
GGTACATACTACGCGAGCTGGGCGAAAGGCCGATTTCACCA
TCTCCAAAACCTCGTCGACCACGGTGGATCTGAAAATCAC
CAGTCCGACAAACCGAGGACACGGCCACCTATTTCTGTGCC
GGAGGTGGTGGTAGTATTTATGATATTTGGGGCCCCGGGCA
CCCTGGTTCACCGTCTCGAGC (配列番号 223)。

10

【0443】

[0483] 本発明の一実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、配列番号 24 の重鎖ポリペプチド配列をコードする次のようなポリヌクレオチド配列を含むか、あるいはこれよりなる：

CAGTCCGGTGGAGGAGTCCGGGGGTCCGCTGGTCAACGCCCTG
GGACACCCCTGACACTCACCTGCACAGTCTCTGGATTCTTC
CCTCAGTAGCTATGTAATGATCTGGGTCCGCCAGGCTCCA
GGGAAGGGGCTGGAATACATCGGAATCACTTGGAGTGTCTG
GTACATACTACGCGAGCTGGGCGAAAGGCCGATTTCACCAAT
CTCCAAAACCTCGTCGACCACGGTGGATCTGAAAATCACCC
AGTCCGACAAACCGAGGACACGGCCACCTATTTCTGTGTGCCG
GAGGTGGTGGTAGTATTTATGATATTTGGGGCCCCGGGCAAC
CCTGGTTCACCGTCTCGAGCGCCTCCACCAAGGGCCCATCG
GTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGG
GCACAGCGGCCCTGGGCTGCCCTGGTCAAGGACTACTTCCC
CGAACCGGTGACGGTGTCGTGGAACCTCAGGCGCCCTGACC
AGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCTCTACAGTCTCTCAG
GACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAG
CAGCTTGGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCAC
AAGCCCAAGCAACACCAAGGTGGACAAAGAGAGTTGAGCCCA
AATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCCAACCGTGCCCAAGC
ACCTGAACCTCCTGGGGGGACCGTCAAGTCTTCTCTTCCCC
CCAAAACCCAAGGACACCCCTCATGATCTCCCGGACCCCTG
AGGTCAACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCC
TGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGAGAGGTG
CATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACGCCA
GCACGTACCGTGTGGTCAAGCGTCTCACCGTCTTGCAACCA
GGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCTC
AACAAAGCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCA
AAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCAACAGGTGTACACCCCT
GCCCCCATCCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAAGGTCAAGC
CTGACCTGCCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCG
CCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAAGCCGGAGAACAACTA
CAAGACCAACGCCCTCCCGTGTCTGGACTCCGACGGCTCCTTC
TTCCTCTACAGCAAGCTCACCGGTGGACAAAGAGCAGGTGGC
AGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGC
TCTGCACAAACCACTACACGCAGAAAGAGCCTCTCCCCCTGTCT

20

30

40

50

C C G G G T A A A T G A (配列番号 2 2 4)。

【0 4 4 4】

本発明のさらなる実施形態では、NGFに対する結合特異性を有する抗体フラグメントをコードするポリヌクレオチドは、配列番号 2 1 の軽鎖可変配列または配列番号 2 2 の軽鎖配列の相補性決定領域 (CDR または超可変領域) をコードするポリヌクレオチドに対応する配列番号 2 2 5、配列番号 2 2 6 および配列番号 2 2 7 のポリヌクレオチド配列を 1 つ以上含むか、あるいはこれよりなる。

【0 4 4 5】

本発明のさらなる実施形態では、NGFに対する結合特異性を有する抗体フラグメントをコードするポリヌクレオチドは、配列番号 2 3 の重鎖可変配列または配列番号 2 4 の重鎖配列の相補性決定領域 (CDR または超可変領域) をコードするポリヌクレオチドに対応する配列番号 2 2 8、配列番号 2 2 9 および配列番号 2 3 0 のポリヌクレオチド配列を 1 つ以上含むか、あるいはこれよりなる。

【0 4 4 6】

また本発明は、本明細書に記載の抗体フラグメントをコードするポリヌクレオチド配列を 1 つ以上含むポリヌクレオチド配列も企図する。本発明の一実施形態では、NGFに対する結合特異性を有する抗体フラグメントをコードするポリヌクレオチドは、抗体フラグメントをコードする次のようなポリヌクレオチドを、そのすべても含め、1 つ、2 つ、3 つまたはそれ以上含むか、あるいはこれよりなる：配列番号 2 1 の軽鎖可変配列をコードするポリヌクレオチド配列番号 2 2 1；配列番号 2 2 の軽鎖配列をコードするポリヌクレオチド配列番号 2 2 2；配列番号 2 3 の重鎖可変配列をコードするポリヌクレオチド配列番号 2 2 3；配列番号 2 4 の重鎖配列をコードするポリヌクレオチド配列番号 2 2 4、配列番号 2 1 の軽鎖可変配列または配列番号 2 2 の軽鎖配列の相補性決定領域をコードするポリヌクレオチド (配列番号 2 2 5、配列番号 2 2 6 および配列番号 2 2 7)；および配列番号 2 3 の重鎖可変配列または配列番号 2 4 の重鎖配列の相補性決定領域をコードするポリヌクレオチド (配列番号 2 2 8、配列番号 2 2 9 および配列番号 2 3 0)。

【0 4 4 7】

本発明の好適な実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、NGFに対する結合特異性を有する Fab (抗原結合フラグメント) フラグメントをコードするポリヌクレオチドを含むか、あるいはこれよりなる。抗体 Ab 3 に関して、完全長 Ab 3 抗体をコードするポリヌクレオチドは、配列番号 2 2 の軽鎖配列をコードするポリヌクレオチド配列番号 2 2 2 および配列番号 2 4 の重鎖配列をコードするポリヌクレオチド配列番号 2 2 4 を含むか、あるいはこれよりなる。

【0 4 4 8】

本発明の別の実施形態は、CHO、NSO、HEK-293 などの哺乳動物細胞で、または真菌、昆虫、植物、動物で、または細菌細胞もしくは酵母ピキア (Pichia) のような酵母細胞などの微生物系で発現させるために発現ベクター内に組み込んだ、上記ポリヌクレオチドを企図する。適当なピキア (Pichia) 種としては、特に限定されないが、ピキア・パストリス (Pichia pastoris) が挙げられる。本明細書に記載の本発明の一実施形態 (下記) では、適当な宿主内で完全長ポリヌクレオチドを発現させた後に、Ab 3 の酵素消化 (例えば、パパイン) により Fab フラグメントを作製してもよい。本発明の別の実施形態では、CHO、NSO もしくは HEK 293 細胞などの哺乳動物細胞、真菌、昆虫、植物、または酵母細胞 (例えば、二倍体ピキア属 (Pichia) のような二倍体酵母) その他の酵母菌株などの微生物系での Ab 3 ポリヌクレオチドの発現により、Ab 3 またはその Fab フラグメントのような抗 NGF 抗体を作製してもよい。適当なピキア (Pichia) 種としては、特に限定されないが、ピキア・パストリス (Pichia pastoris) が挙げられる。

【0 4 4 9】

抗体 Ab 4

別の実施形態では、さらに本発明は、NGF と Trk A との結合を阻害する、および N

10

20

30

40

50

G F と T r k A との結合に大幅な影響を及ぼさない抗 N G F 抗体およびそのフラグメントをコードするポリヌクレオチドに関する。さらに本発明は、N G F に対する結合特異性を有する抗体ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドに関する。本発明の一実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、配列番号 3 1 の可変軽鎖ポリペプチド配列をコードする次のようなポリヌクレオチド配列を含むか、あるいはこれよりなる：

【0450】

G A C A T C C A G A T G A C C C A G T C T C C T T C C A C C C T G T C T G C A
T C T G T A G G A G A C A G A G T C A C C A T C A C T T G C C A G T C C A G T C
A G A G T G T C T A T A A G A A C A A C T A C T T A T C C T G G T A T C A G C A
G A A A C C A G G A A A A G C C C C T A A G C T C C T G A T C T A T G A T G C A
T C C A A T C T G C C A T C T G G A G T C C C A T C A A G G T T C A G C G G C A
G T G G A T C T G G A A C A G A A T T C A C T C T C A C C A T C A G C A G C C T
G C A G C C T G A T G A T T T T G C A A C T T A T T A C T G C C T A G G C G A T
T A T G A T G A T G A T G C T G A T A A T G C T T T C G G C G G A G G A A C C A
A G G T G G A A A T C A A A C G T (配列番号 2 3 1)。

10

【0451】

本発明の一実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、配列番号 3 2 の軽鎖ポリペプチド配列をコードする次のようなポリヌクレオチド配列を含むか、あるいはこれよりなる：

【0452】

G A C A T C C A G A T G A C C C A G T C T C C T T C C A C C C T G T C T G C A
T C T G T A G G A G A C A G A G T C A C C A T C A C T T G C C A G T C C A G T C
A G A G T G T C T A T A A G A A C A A C T A C T T A T C C T G G T A T C A G C A
G A A A C C A G G A A A A G C C C C T A A G C T C C T G A T C T A T G A T G C A
T C C A A T C T G C C A T C T G G A G T C C C A T C A A G G T T C A G C G G C A
G T G G A T C T G G A A C A G A A T T C A C T C T C A C C A T C A G C A G C C T
G C A G C C T G A T G A T T T T G C A A C T T A T T A C T G C C T A G G C G A T
T A T G A T G A T G A T G C T G A T A A T G C T T T C G G C G G A G G A A C C A
A G G T G G A A A T C A A A C G T A C G G T A G C G G C C C C A T C T G T C T T
C A T C T T C C C G C C A T C T G A T G A G C A G T T G A A A T C T G G A A C T
G C C T C T G T T G T G T G C C T G C T G A A T A A C T T C T A T C C C A G A G
A G G C C A A A G T A C A G T G G A A G G T G G A T A A C G C C C T C C A A T C
G G G T A A C T C C C A G G A G A G T G T C A C A G A G C A G G A C A G C A A G
G A C A G C A C C T A C A G C C T C A G C A G C A C C C T G A C G C T G A G C A
A A G C A G A C T A C G A G A A A C A C A A A G T C T A C G C C T G C G A A G T
C A C C C A T C A G G G C C T G A G C T C G C C C G T C A C A A A G A G C T T C
A A C A G G G G A G A G T G T T A G (配列番号 2 3 2)。

20

30

【0453】

本発明の別の実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、配列番号 3 3 の可変重鎖ポリペプチド配列をコードする次のようなポリヌクレオチド配列を含むか、あるいはこれよりなる：

40

【0454】

G A G G T G C A G C T G G T G G A G T C T G G G G G A G G C T T G G T C C A G
C C T G G G G G G T C C C T G A G A C T C T C C T G T G C A G C C T C T G G A T
T C A C C G T C A G T A G C T A T G T A A T G A T C T G G G T C C G T C A G G C
T C C A G G G A A G G G G C T G G A G T A C A T C G G A A T C A C T T G G A G T
G C T G G T A C A T A C T A C G C G A G C A G T G C G A A A G G C C G A T T C A
C C A T C T C C A G A G A C A A T T C C A A G A A C A C C C T G T A T C T T C A
A A T G A A C A G C C T G A G A G C T G A G G A C A C T G C T G T G T A T T A C
T G T G C T G G A G G T G G T G G T A G T A T C T A T G A T A T T T G G G G C C

50

AAGGGACCCCTCGTCAACCGTCTCGAGC（配列番号233）。

【0455】

本発明の一実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、配列番号34の重鎖ポリペプチド配列をコードする次のようなポリヌクレオチド配列を含むか、あるいはこれよりなる：

GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCCAGC
CTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATT
CACCGTCAGTAGCTATGTAATGATCTGGGTCCGTCAAGGCT
CCAGGGAAGGGGCTGGAGTACATCGGAATCACTTGGAGTG
CTGGTACATACTACGCGAGCAGTGCGAAAGGCCGATTTCAC
CATCTCCAGAGACAATTCACAAGAACACCCCTGTATCTTCAA
ATGAACAGCCTGAGAGCTGAGGACACTGCTGTGTATTACT
GTGCTGGAGGTGGTGGTAGTATCTATGATATTTGGGGGCCA
AGGGACCCCTCGTCAACCGTCTCGAGCGCCTCCACCAAGGGC
CCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCT
CTGGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCGCTGGTCAAGGACTA
CTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGGAACCTCAGGCGCC
CTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCCGGCTGTCTCTACAGT
CCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGGCC
CTCCAAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTG
AATCACAAAGCCCAAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTG
AGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCCAACCGTG
CCCAGCACCTGAACCTCCTGGGGGGGACCGTCAGTCTTCTCTC
TTCCCCCCAAACCCCAAGGACACCCCTCATGATCTCCCCGGA
CCCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGA
AGACCCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTG
GAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGT
ACGCCAGCACGTACCGTGTGGTCAAGCGTCTCTACCGTCTCT
GCACCAAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAG
GTCTCCAACAAGCCCTCCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCA
TCTCCAAGGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCAACAGGTGTA
CACCCCTGCCCCCATCCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAAG
GTCAGCCTGACCTGCCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCG
ACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCGAGCCGGAGAA
CAACTACAAAGACCAACGCCCTCCCCGTGCTGGACTCCGACGGC
TCTTCTTCTCTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCA
GGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCA
TGAGGCTCTGCACAAACCACTACACGCAGAAAGAGCCTCTCC
CTGTCTCCGGGTAAATGA（配列番号234）。

【0456】

本発明のさらなる実施形態では、NGFに対する結合特異性を有する抗体フラグメントをコードするポリヌクレオチドは、配列番号31の軽鎖可変配列または配列番号32の軽鎖配列の相補性決定領域（CDRまたは超可変領域）をコードするポリヌクレオチドに対応する配列番号235、配列番号236および配列番号237のポリヌクレオチド配列を1つ以上含むか、あるいはこれよりなる。

【0457】

本発明のさらなる実施形態では、NGFに対する結合特異性を有する抗体フラグメントをコードするポリヌクレオチドは、配列番号33の重鎖可変配列または配列番号34の重鎖配列の相補性決定領域（CDRまたは超可変領域）をコードするポリヌクレオチドに対応する配列番号238、配列番号239および配列番号240のポリヌクレオチド配列を

1つ以上含むか、あるいはこれよりなる。

【0458】

また本発明は、本明細書に記載の抗体フラグメントをコードするポリヌクレオチド配列を1つ以上含むポリヌクレオチド配列も企図する。本発明の一実施形態では、NGFに対する結合特異性を有する抗体フラグメントをコードするポリヌクレオチドは、抗体フラグメントをコードする次のようなポリヌクレオチドを、そのすべても含め、1つ、2つ、3つまたはそれ以上含むか、あるいはこれよりなる：配列番号31の軽鎖可変配列をコードするポリヌクレオチド配列番号231；配列番号32の軽鎖配列をコードするポリヌクレオチド配列番号232；配列番号33の重鎖可変配列をコードするポリヌクレオチド配列番号233；配列番号34の重鎖配列をコードするポリヌクレオチド配列番号234、配列番号31の軽鎖可変配列または配列番号32の軽鎖配列の相補性決定領域をコードするポリヌクレオチド（配列番号235、配列番号236および配列番号237）；および配列番号33の重鎖可変配列または配列番号34の重鎖配列相補性決定領域をコードするポリヌクレオチド（配列番号238、配列番号239および配列番号240）。

10

【0459】

本発明の好適な実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、NGFに対する結合特異性を有するFab（抗原結合フラグメント）フラグメントをコードするポリヌクレオチドを含むか、あるいはこれよりなる。抗体Ab4に関して、完全長Ab4抗体をコードするポリヌクレオチドは、配列番号32の軽鎖配列をコードするポリヌクレオチド配列番号232および配列番号34の重鎖配列をコードするポリヌクレオチド配列番号234を含むか、あるいはこれよりなる。

20

【0460】

本発明の別の実施形態は、CHO、NSO、HEK-293などの哺乳動物細胞で、または真菌、昆虫、植物、動物で、または細菌細胞もしくは酵母ピキア（*Pichia*）のような酵母細胞などの微生物系で発現させるために発現ベクター内に組み込んだ、上記ポリヌクレオチドを企図する。適当なピキア（*Pichia*）種としては、特に限定されないが、ピキア・パストリス（*Pichia pastoris*）が挙げられる。本明細書に記載の本発明の一実施形態（下記）では、適当な宿主内で完全長ポリヌクレオチドを発現させた後に、Ab4の酵素消化（例えば、パパイン）によりFabフラグメントを作製してもよい。本発明の別の実施形態では、CHO、NSOもしくはHEK293細胞などの哺乳動物細胞、真菌、昆虫、植物、または酵母細胞（例えば、二倍体ピキア属（*Pichia*）のような二倍体酵母）その他の酵母菌株などの微生物系でのAb4ポリヌクレオチドの発現により、Ab4またはそのFabフラグメントのような抗NGF抗体を作製してもよい。適当なピキア（*Pichia*）種としては、特に限定されないが、ピキア・パストリス（*Pichia pastoris*）が挙げられる。

30

【0461】

抗体Ab5

別の実施形態では、さらに本発明は、NGFとTrkAとの結合およびNGFとTrkAとの結合を阻害する抗NGF抗体およびそのフラグメントをコードするポリヌクレオチドに関する。さらに本発明は、NGFに対する結合特異性を有する抗体ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドに関する。本発明の一実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、配列番号41の可変軽鎖ポリペプチド配列をコードする次のようなポリヌクレオチド配列を含むか、あるいはこれよりなる：

40

【0462】

G C C T A T G A T A T G A C C C A G A C T C C A G C C T C T G T G G A G G T A
G C T G T G G G A G G C A C A G T C A C C A T C A A G T G C C A G G C C A G T C
A G A G C A T T T A C A G C A A T T T A G C C T G G T A T C A G C A G A G A C C
A G G G C A G C C T C C C A A G C T C C T G A T C T A T G A T G C A T C C A C T
C T G G A A T C T G G G G T C C C A T C G C G G T T C A A A G G C A G T G G A T
C T G G G A C A G A G T A C A C T C T C A C C A T C A G C G G C G T G G A G T G

50

TGCCGATGCTGCCCTCTTACTACTGTCAACAGGGTTTTTACT
GTTAGTGATATTGATAATGCTTTCGGCGGAGGGACCGAGG
TGGTGGTCAAACGT（配列番号241）。

【0463】

本発明の一実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、配列番号42の軽鎖ポリペプチド配列をコードする次のようなポリヌクレオチド配列を含むか、あるいはこれよりなる：

【0464】

GCCTATGATATGACCCAGACTCCAGCCTCTGTGGAGGTA
GCTGTGGGAGGACACAGTCAACCATCAAGTGCCAGGCCAGTCA
AGAGCATTTACAGCAATTTAGCCTGGTATCAGCAGAGAGACC
AGGGCAGCCTCCCAAGCTCCTGATCTATGATGCATCCACT
CTGGAATCTGGGGTCCCATCGCGGGTTCAAAGGCAGTGGAT
CTGGGACAGAGTACACTCTCACCATCAGCGGCGTGGAGTGT
TGCCGATGCTGCCCTCTTACTACTGTCAACAGGGTTTTTACT
GTTAGTGATATTGATAATGCTTTCGGCGGAGGGACCGAGG
TGGTGGTCAAACGTACGGTAGCGGCCCCCATCTGTCTTTCAT
CTTCCCAGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAACCTGCC
TCTGTGTGTGTGCCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGG
CCAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGG
TAACTCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGAC
AGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCCTGACGCTGAGCAAAG
CAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCCTGCGAAGTCAAC
CCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCAACAAAGAGCTTCAAC
AGGGGAGAGTGTTAG（配列番号242）。

【0465】

本発明の別の実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、配列番号43の可変重鎖ポリペプチド配列をコードする次のようなポリヌクレオチド配列を含むか、あるいはこれよりなる：

【0466】

CAGTCGGTGGAGGAGTCCGGGGGTTCGCCCTGGTCAACGCCCT
GGGACACCCCTGACACTCACCTGCACAGTCTCTGGATTCTT
CCCTCAGTAACCTATGCAGTGGGCTGGGTCCGCCAGGCTCC
AGGGAAAGGGGCTGGAATGGATCGGAATCATTTGGTCGTAAAT
GGTAACACATGGTACGCGAGCTGGGCAAGAGGCCCGATTCA
CCATCTCCAAAACCTCGACCAACGGTGGATCTGAAAATCAC
CAGTCCGACAAAGCGAGGACACGGCCACATATTTCTGTGCC
AGAGGATATGGCCGTAGTGTTCCTTATACGTCCTTTAAACA
TCTGGGGGCCCAAGGCACCCCTCGTCAACCGTCTCGAGC（配列番号
243）。

【0467】

本発明の一実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、配列番号44の重鎖ポリペプチド配列をコードする次のようなポリヌクレオチド配列を含むか、あるいはこれよりなる：

CAGTCGGTGGAGGAGTCCGGGGGTTCGCCCTGGTCAACGCCCTG
GGACACCCCTGACACTCACCTGCACAGTCTCTGGATTCTTC
CCTCAGTAACCTATGCAGTGGGCTGGGTCCGCCAGGCTCCCA
GGGAAGGGGCTGGAATGGATCGGAATCATTTGGTCGTAAATG
GTAACACATGGTACGCGAGCTGGGCAAGAGGCCCGATTCAAC
CATCTCCAAAACCTCGACCAACGGTGGATCTGAAAATCACCC

AGTCCGACAAAGCGAGGACACGGCCACATATTTCTGTGCCA
GAGGATATGGCCGTAGTGTGTGCTTATTTACGTCTTTAAACAT
CTGGGGCCCCAGGCAACCTCTGTCACCGTCTCGAGCGCCTCC
ACCAAGGGCCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCA
AGAGCACCTCTGGGGGACACAGCGGGCCCTGGGCTGCCCTGGT
CAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGGAAC
TCAGGCGCCCCGTGACCAAGCGGCGTGCACACCTTCCCCGGCTG
TCCTACAGTCTCTAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGT
GACCGTGTCCCCCTCCAGCAGCTTGGGCAACCCAGACCTACATC
TGCAACGTGAATCACAAAGCCCCAGCAACACCAAGGTGGACA
AGAGAGTTTGAGCCCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACATG
CCCCACCGTGTCCCCAGCACCTGAACCTCCTGGGGGGACCGTCA
GTCTTTCCTCTTCCCCCCCCAAACCCCAAGGACACCCCTCATGA
TCTCCC CGGACCCCTGAGGTCAACATGCGTGGTGGTGGACGT
GAGCCACGAAGACCCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTG
GACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGG
AGGAGCAGTACGCCAGCACGTACCGTGTGGTCAAGCGTCTCT
CACCGTCTCTGCACCAAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTAC
AAGTGCAAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCCATCG
AGAAAACCATCTCCAAGGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCC
ACAGGTGTACACCCCTGCCCCCATCCCCGGGAGGAGATGACC
AAGAACCAAGGTCAAGCCTGACCTGCCCTGGTCAAAGGCTTCT
ATCCCAGCGACATCGCCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGGCA
GCCGGAGAAACAACCTACAAGACCAACGCCCTCCCGTGTGGAC
TCCGACGGCTCCTTCTTCTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGG
ACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTC
CGTGATGCATGAGGCTCTGCACAAACCACTACACGCAGAAAG
AGCCTCTCCCCCTGTCTCCGGGTAAATGA（配列番号244）。

【0468】

本発明のさらなる実施形態では、NGFに対する結合特異性を有する抗体フラグメントをコードするポリヌクレオチドは、配列番号41の軽鎖可変配列または配列番号42の軽鎖配列の相補性決定領域（CDRまたは超可変領域）をコードするポリヌクレオチドに対応する配列番号245、配列番号246および配列番号247のポリヌクレオチド配列を1つ以上含むか、あるいはこれよりなる。

【0469】

本発明のさらなる実施形態では、NGFに対する結合特異性を有する抗体フラグメントをコードするポリヌクレオチドは、配列番号43の重鎖可変配列または配列番号44の重鎖配列の相補性決定領域（CDRまたは超可変領域）をコードするポリヌクレオチドに対応する配列番号248、配列番号249および配列番号250のポリヌクレオチド配列を1つ以上含むか、あるいはこれよりなる。

【0470】

また本発明は、本明細書に記載の抗体フラグメントをコードするポリヌクレオチド配列を1つ以上含むポリヌクレオチド配列も企図する。本発明の一実施形態では、NGFに対する結合特異性を有する抗体フラグメントをコードするポリヌクレオチドは、抗体フラグメントをコードする次のようなポリヌクレオチドを、そのすべても含め、1つ、2つ、3つまたはそれ以上含むか、あるいはこれよりなる：配列番号41の軽鎖可変配列をコードするポリヌクレオチド配列番号241；配列番号42の軽鎖配列をコードするポリヌクレオチド配列番号242；配列番号43の重鎖可変配列をコードするポリヌクレオチド配列番号243；配列番号44の重鎖配列をコードするポリヌクレオチド配列番号244；配列番号41の軽鎖可変配列または配列番号42の軽鎖配列の相補性決定領域をコードする

ポリヌクレオチド（配列番号245、配列番号246および配列番号247）；および配列番号43の重鎖可変配列または配列番号44の重鎖配列の相補性決定領域をコードするポリヌクレオチド（配列番号248、配列番号249および配列番号250）。

【0471】

本発明の好適な実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、NGFに対する結合特異性を有するFab（抗原結合フラグメント）フラグメントをコードするポリヌクレオチドを含むか、あるいはこれよりなる。抗体Ab5に関して、完全長Ab5抗体をコードするポリヌクレオチドは、配列番号42の軽鎖配列をコードするポリヌクレオチド配列番号242および配列番号44の重鎖配列をコードするポリヌクレオチド配列番号244を含むか、あるいはこれよりなる。

10

【0472】

本発明の別の実施形態は、CHO、NSO、HEK-293などの哺乳動物細胞で、または真菌、昆虫、植物で、または酵母ピキア（*Pichia*）のような酵母細胞などの微生物系で発現させるために発現ベクター内に組み込んだ、上記ポリヌクレオチドを企図する。適当なピキア（*Pichia*）種としては、特に限定されないが、ピキア・パストリス（*Pichia pastoris*）が挙げられる。本明細書に記載の本発明の一実施形態（下記）では、適当な宿主内で完全長ポリヌクレオチドを発現させた後に、Ab5の酵素消化（例えば、パパイン）によりFabフラグメントを作製してもよい。本発明の別の実施形態では、CHO、NSOもしくはHEK293細胞などの哺乳動物細胞、真菌、昆虫、植物、動物、または細菌細胞もしくは酵母細胞（例えば、二倍体ピキア属（*Pic* 20
*h**i**a*）のような二倍体酵母）その他の酵母菌株などの微生物系でのAb5ポリヌクレオチドの発現により、Ab5またはそのFabフラグメントのような抗NGF抗体を作製してもよい。適当なピキア（*Pichia*）種としては、特に限定されないが、ピキア・パストリス（*Pichia pastoris*）が挙げられる。

【0473】

抗体Ab6

別の実施形態では、さらに本発明は、NGFとTrkAとの結合およびNGFとTrkAとの結合を阻害する抗NGF抗体およびそのフラグメントをコードするポリヌクレオチドに関する。さらに本発明は、NGFに対する結合特異性を有する抗体ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドに関する。本発明の一実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、配列番号51の可変軽鎖ポリペプチド配列をコードする次のようなポリヌクレオチド配列を含むか、あるいはこれよりなる：

30

【0474】

GACATCCAGATGACCCAGTCTCCTTCCACCCCTGTCTGCA
TCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTGCCAGGCCAGTCA
AGAGCATTTACAGCAATCTTGCCCTGGTATCAGCAGAAACC
AGGAAAAGCCCCCTAAGCTCCTGATCTATGATGCATCCACT
CTGGAAATCTGGAGTCCCATCAAGGTTTCAGCGGCAGTGGAT
CTGGGACAGAGTACACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAGCC
TGATGATTTTGCACCTTACTACTGCCAACAGGGTTTACT
GTTAGTGATATTGATAATGCTTTTCGGCGGAGGAACCAAGG
TGGAAATCAAAACGT（配列番号251）。

40

【0475】

本発明の一実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、配列番号52の軽鎖ポリペプチド配列をコードする次のようなポリヌクレオチド配列を含むか、あるいはこれよりなる：

【0476】

GACATCCAGATGACCCAGTCTCCTTCCACCCCTGTCTGCA
TCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTGCCAGGCCAGTCA
AGAGCATTTACAGCAATCTTGCCCTGGTATCAGCAGAAACC

50

AGGAAAAGCCCCCTAAGCTCCTGATCTATGATGCATCCACT
CTGGAAATCTGGAGTCCCATCAAGGTTGAGCGGCAGTGGAT
CTGGGACAGAGTACACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAGCC
TGATGATTTTGGCAACTTACTACTGCCAACAGGGTTTTACT
GTTAGTGATATTGATAATGCTTTTCGGCGGAGGAACCAAGG
TGGAAATCAAAACGTACGGTAGCGGGCCCCATCTGTCTTTCAT
CTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAACCTGCC
TCTGTTGTGTGCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGG
CCAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAAACGCCCTCCAAATCGGG
TAACCTCCCAGGAGAGTGTCACAGAGCAGGACAGCAAGGAC
AGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCCTGACGCTGAGCAAAG
CAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCCTGCGAAGTCA
CCATCAGGGGCCCTGAGCTCGCCCCGTCACAAAGAGCTTCAAC
AGGGGAGAGTGTTAG（配列番号252）。

10

【0477】

本発明の別の実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、配列番号53の可変重鎖ポリペプチド配列をコードする次のようなポリヌクレオチド配列を含むか、あるいはこれよりなる：

【0478】

GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCCAG
CCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGAT
TCACCGTCAGTAACTATGCAGTGGGCTGGGTCCGTCAAGC
TCCAGGGAAGGGGGCTGGAGTGGGTTCGGAATCATTTGGTCTG
AATGGTAACACATGGTACGCGAGCTCTGCAAGAGGCCCGAT
TCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACCCTGTATCT
TCAAATGAACAGCCTGAGAGCTGAGGACACTGCTGTGTAT
TACTGTGCTAGAGGATATGGGCCGTAGTTGTTGCTTATTACG
TCTTTAACATCTGGGGGCCCAAGGGACCCCTCGTCAACCGTCTC
GAGC（配列番号253）。

20

【0479】

本発明の一実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、配列番号54の重鎖ポリペプチド配列をコードする次のようなポリヌクレオチド配列を含むか、あるいはこれよりなる：

30

GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCCAGC
CTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGAT
CACCGTCAGTAACTATGCAGTGGGCTGGGTCCGTCAAGC
CCAGGGAAGGGGGCTGGAGTGGGTTCGGAATCATTTGGTCTG
ATGGTAACACATGGTACGCGAGCTCTGCAAGAGGCCCGAT
CACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACCCTGTATCT
CAAATGAACAGCCTGAGAGCTGAGGACACTGCTGTGTAT
ACTGTGCTAGAGGATATGGGCCGTAGTTGTTGCTTATTACG
CTTTAACATCTGGGGGCCCAAGGGACCCCTCGTCAACCGTCTC
AGCGCCTCCACCAAGGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCAC
CCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGGCACAGCGGCCCTGGG
CTGCCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTG
TCGTGGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGACACACCT
TCCCGGCTGTCTACAGTCTCTCAGGACTCTACTCCCTCAG
CAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAG
ACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAAGCCAGCAACACCA
AGGTGGACAAAGAGAGTTGAGCCCCAAATCTTGTGACAAAAC

40

50

TCACACATGCCACCGTGCCAGCACCTGAACCTCCTGGGG
GGACCGGTCAGTCTTCTTCCCTCCCAAAACCCAAAGGACA
CCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCAACATGCGTGGT
GGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCCTGAGGTCAAGTTCAAC
TGGTACGTGGACGGCGTGGAAGGTGCATAATGCCAAGACAA
AGCCGCGGGGAGGAGCAGTACGCCAGCACGTACCGTGTTGGT
CAGCGTCTCTCACCGTCTTGCACCAAGGACTGGCTGAATGGC
AAGGAGTACAAGTGC AAGGTCTTCCAACAAGCCCTCCAG
CCCCCATCGAGAAACCACTCTCCAAGCCAAAGGGCAGCC
CCGAGAAACACAGGTGTACACCCCTGCCCCCATCCCGGGAG
GAGATGACCAAGAACCAAGGTCAAGCCTGACCTGCCCTGGTCA
AAGGCTTCTATCCAGCGACATCGCCGTGGAAGTGGGAGAG
CAATGGGCGAGCCGGAGAACAACTACAAAGACCACGCCCTCC
GTGCTGGACTCCGACGGCTCTTCTTCTCTCTACAGCAAGC
TCACCGGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTT
CTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTAC
ACGCGAGAAAGAGCCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAATGA（配列番
号254）。

10

【0480】

本発明のさらなる実施形態では、NGFに対する結合特異性を有する抗体フラグメントをコードするポリヌクレオチドは、配列番号51の軽鎖可変配列または配列番号52の軽鎖配列の相補性決定領域（CDRまたは超可変領域）をコードするポリヌクレオチドに対応する配列番号255、配列番号256および配列番号257のポリヌクレオチド配列を1つ以上含むか、あるいはこれよりなる。

20

【0481】

本発明のさらなる実施形態では、NGFに対する結合特異性を有する抗体フラグメントをコードするポリヌクレオチドは、配列番号53の重鎖可変配列または配列番号54の重鎖配列の相補性決定領域（CDRまたは超可変領域）をコードするポリヌクレオチドに対応する配列番号258、配列番号259および配列番号260のポリヌクレオチド配列を1つ以上含むか、あるいはこれよりなる。

30

【0482】

また本発明は、本明細書に記載の抗体フラグメントをコードするポリヌクレオチド配列を1つ以上含むポリヌクレオチド配列も企図する。本発明の一実施形態では、NGFに対する結合特異性を有する抗体フラグメントをコードするポリヌクレオチドは、抗体フラグメントをコードする次のようなポリヌクレオチドを、そのすべても含め、1つ、2つ、3つまたはそれ以上含むか、あるいはこれよりなる：配列番号51の軽鎖可変配列をコードするポリヌクレオチド配列番号251；配列番号52の軽鎖配列をコードするポリヌクレオチド配列番号252；配列番号53の重鎖可変配列をコードするポリヌクレオチド配列番号253；配列番号54の重鎖配列をコードするポリヌクレオチド配列番号254；配列番号51の軽鎖可変配列または配列番号52の軽鎖配列の相補性決定領域をコードするポリヌクレオチド（配列番号255、配列番号256および配列番号257）；および配列番号53の重鎖可変配列または配列番号54の重鎖配列の相補性決定領域（配列番号258、配列番号259および配列番号260）をコードするポリヌクレオチド。

40

【0483】

本発明の好適な実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、NGFに対する結合特異性を有するFab（抗原結合フラグメント）フラグメントをコードするポリヌクレオチドを含むか、あるいはこれよりなる。抗体Ab6に関して、完全長Ab6抗体をコードするポリヌクレオチドは、配列番号52の軽鎖配列をコードするポリヌクレオチド配列番号252および配列番号54の重鎖配列をコードするポリヌクレオチド配列番号254を含むか、あるいはこれよりなる。

50

【0484】

本発明の別の実施形態は、CHO、NSO、HEK-293などの哺乳動物細胞で、または真菌、昆虫、植物、動物で、または細菌細胞もしくは酵母ピキア（*Pichia*）のような酵母細胞などの微生物系で発現させるために発現ベクター内に組み込んだ、上記ポリヌクレオチドを企図する。適当なピキア（*Pichia*）種としては、特に限定されないが、ピキア・パストリス（*Pichia pastoris*）が挙げられる。本明細書に記載の本発明の一実施形態（下記）では、適当な宿主内で完全長ポリヌクレオチドを発現させた後に、Ab6の酵素消化（例えば、パパイン）によりFabフラグメントを作製してもよい。本発明の別の実施形態では、CHO、NSOもしくはHEK293細胞などの哺乳動物細胞、真菌、昆虫、植物、または酵母細胞（例えば、二倍体ピキア属（*Pichia*）のような二倍体酵母）その他の酵母菌株などの微生物系でのAb6ポリヌクレオチドの発現により、Ab6またはそのFabフラグメントのような抗NGF抗体を作製してもよい。適当なピキア（*Pichia*）種としては、特に限定されないが、ピキア・パストリス（*Pichia pastoris*）が挙げられる。

10

【0485】

抗体Ab7

別の実施形態では、さらに本発明は、NGFとTrkAとの結合およびNGFとTrkAとの結合を阻害する抗NGF抗体およびそのフラグメントをコードするポリヌクレオチドに関する。さらに本発明は、NGFに対する結合特異性を有する抗体ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドに関する。本発明の一実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、配列番号61の変換軽鎖ポリペプチド配列をコードする次のようなポリヌクレオチド配列を含むか、あるいはこれよりなる：

20

【0486】

GCCGATGTTGTGATGACCCAGACTCCAGCCTCCGTGTCT
CAACCTGTGGGAGGCACAGTCAACCATCAAGTGCCAGGCCA
GTGAGGACATTTATAACTTATTGGCCTGGTATCAGCAGAA
ACCAGGGCAGCCTCCCAAGCTCCTGATCTATTCTGCATCC
ACTCTGGCATTCTGGGGTCCCATCGCGGTTCAAAGGCAGTG
GATCTGGGACAGAGTACACTCTCACCATCAGCGGCCTGGA
GTGTGCCGATGCTGCCACTTACTACTGTCAAAACAATTAT
CTTGTTACTACTTATGGTGTGTGCTTTTCGGCGGAGGGACCG
AGGTGGTGGTCAAAACGT（配列番号261）。

30

【0487】

本発明の一実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、配列番号62の軽鎖ポリペプチド配列をコードする次のようなポリヌクレオチド配列を含むか、あるいはこれよりなる：

【0488】

GCCGATGTTGTGATGACCCAGACTCCAGCCTCCGTGTCT
CAACCTGTGGGAGGCACAGTCAACCATCAAGTGCCAGGCCA
GTGAGGACATTTATAACTTATTGGCCTGGTATCAGCAGAA
ACCAGGGCAGCCTCCCAAGCTCCTGATCTATTCTGCATCC
ACTCTGGCATTCTGGGGTCCCATCGCGGTTCAAAGGCAGTG
GATCTGGGACAGAGTACACTCTCACCATCAGCGGCCTGGA
GTGTGCCGATGCTGCCACTTACTACTGTCAAAACAATTAT
CTTGTTACTACTTATGGTGTGTGCTTTTCGGCGGAGGGACCG
AGGTGGTGGTCAAAACGTACGGGTAGCGGCCCCCATCTGTCTT
CATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAACCT
GCCTCTGTTGTGTGCTGCTGAATAAATTCTATCCAGAG
AGGCCAAAGTACAGTGGAAAGGTGGATAACGCCCTCCAATC
GGGTAACTCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAG

40

50

GACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCCTGACGCTGAGCA
AAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCCTGCGAAGT
CACCCATCAGGGGCTGAGCTCGCCCCGTCAACAAAGAGCTTC
AACAGGGGAGAGTTGTTAG (配列番号 262)。

【0489】

本発明の別の実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、配列番号 63 の可変重鎖ポリペプチド配列をコードする次のようなポリヌクレオチド配列を含むか、あるいはこれよりなる：

【0490】

CAGGAGCAGCTGAAGGAGTCCGGGGGGTCCGCTGGTCAACG
CCTGGGACACCCCTGACACTCACCTGTACAGTCTCTGGAT
TCTCCCTCAGTAGCTATGCAATGATCTGGGTCCGCCAGGC
TCCAGGGAAGGGGGCTGGAATACATCGGATACATTGATACT
GATACTAGCGCATACTACGCGAGCTGGGTGAAAGGCCCGAT
TCACCATCTCCAGAACCTCGACACACGGTGGATCTCAAAAT
CACTAGTCCGACAACCGAGGACACGGCCACCTATTTCTGT
GCCAGATCTTATGCTGCTTATGGTGGTTATCCTGCTACTT
TTGATCCCTGGGGGCCCAGGCACCCCTGGTCAACCGTCTCGAG
C (配列番号 263)。

【0491】

本発明の一実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、配列番号 64 の重鎖ポリペプチド配列をコードする次のようなポリヌクレオチド配列を含むか、あるいはこれよりなる：

CAGGAGCAGCTGAAGGAGTCCGGGGGGTCCGCTGGTCAACGC
CTGGGACACCCCTGACACTCACCTGTACAGTCTCTGGATT
CTCCCTCAGTAGCTATGCAATGATCTGGGTCCGCCAGGC
CCAGGGAAGGGGGCTGGAATACATCGGATACATTGATACTG
ATACTAGCGCATACTACGCGAGCTGGGTGAAAGGCCCGATT
CACCATCTCCAGAACCTCGACACACGGTGGATCTCAAAATC
ACTAGTCCGACAACCGAGGACACGGCCACCTATTTCTGTG
CCAGATCTTATGCTGCTTATGGTGGTTATCCTGCTACTTT
TGATCCCTGGGGGCCCAGGCACCCCTGGTCAACCGTCTCGAGC
GCCTCCACCAAGGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCT
CCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGGCACAGCGGCCCTGGGGCTG
CCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTGCG
TGGAACCTCAGGCGCCCTGACACAGCGGCGTGACACACCTTCC
CGGCTGTCTCTACAGTCCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAG
CGTGGTGACCGTGCCTTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCC
TACATCTGCAACGTGAATCACAAAGCCAGCAACACCAAGG
TGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAAATCTTGTTGACAAAACCTCA
CACATGCCCAACCGTGCCCAAGCACCTGAACCTCTGGGGGGGA
CCGTCAGTCTTCCCTCTTCCCCCAGGACACCC
TCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTACACATGCGTGGTGGT
GGACGTGAGCCACGAAGACCCCTGAGGTCAAGTTCAACTGG
TACGTGGACGGCGTGAGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGC
CGCGGGAGGAGCAGTACGCCAGCACGTACCGTGTGGTCAAG
CGTCCCTCACCGTCCCTGCACCAAGGACTGGCTGAATGGCAAG
GAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAAGCCC
CCATCGAGAAAACCATCTCCAAGCCAAAGGGCAGCCCCG
AGAACCAACAGGTGTACACCCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAG

10

20

30

40

50

ATGACCAAGAACCAAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAG
GCTTCTATCCCAAGCAGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAAA
TGGGCAGCCGGAGAAACAACCTACAAAGACCACGCCCTCCCGTGG
CTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCCTCTACAGCAAAGCTCA
CCGTGGACAAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTC
ATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCAACAACCACTACACG
CAGAAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAATGA（配列番号264）。

【0492】

本発明のさらなる実施形態では、NGFに対する結合特異性を有する抗体フラグメントをコードするポリヌクレオチドは、配列番号61の軽鎖可変配列または配列番号62の軽鎖配列の相補性決定領域（CDRまたは超可変領域）をコードするポリヌクレオチドに対応する配列番号265、配列番号266および配列番号267のポリヌクレオチド配列を1つ以上含むか、あるいはこれよりなる。

10

【0493】

本発明のさらなる実施形態では、NGFに対する結合特異性を有する抗体フラグメントをコードするポリヌクレオチドは、配列番号63の重鎖可変配列または配列番号64の重鎖配列の相補性決定領域（CDRまたは超可変領域）をコードするポリヌクレオチドに対応する配列番号268、配列番号269および配列番号270のポリヌクレオチド配列を1つ以上含むか、あるいはこれよりなる。

20

【0494】

また本発明は、本明細書に記載の抗体フラグメントをコードするポリヌクレオチド配列を1つ以上含むポリヌクレオチド配列も企図する。本発明の一実施形態では、NGFに対する結合特異性を有する抗体フラグメントをコードするポリヌクレオチドは、抗体フラグメントをコードする次のようなポリヌクレオチドを、そのすべても含め、1つ、2つ、3つまたはそれ以上含むか、あるいはこれよりなる：配列番号61の軽鎖可変配列をコードするポリヌクレオチド配列番号261；配列番号62の軽鎖配列をコードするポリヌクレオチド配列番号262；配列番号63の重鎖可変配列をコードするポリヌクレオチド配列番号263；配列番号64の重鎖配列をコードするポリヌクレオチド配列番号264；配列番号61の軽鎖可変配列または配列番号62の軽鎖配列の相補性決定領域をコードするポリヌクレオチド（配列番号265、配列番号266および配列番号267）；および配列番号63の重鎖可変配列または配列番号64の重鎖配列の相補性決定領域をコードするポリヌクレオチド（配列番号268、配列番号269および配列番号270）。

30

【0495】

本発明の好適な実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、NGFに対する結合特異性を有するFab（抗原結合フラグメント）フラグメントをコードするポリヌクレオチドを含むか、あるいはこれよりなる。抗体Ab7に関して、完全長Ab7抗体をコードするポリヌクレオチドは、配列番号62の軽鎖配列をコードするポリヌクレオチド配列番号262および配列番号64の重鎖配列をコードするポリヌクレオチド配列番号264を含むか、あるいはこれよりなる。

40

【0496】

本発明の別の実施形態は、CHO、NSO、HEK-293などの哺乳動物細胞で、または真菌、昆虫、植物で、または酵母ピキア（*Pichia*）のような酵母細胞などの微生物系で発現させるために発現ベクター内に組み込んだ、上記ポリヌクレオチドを企図する。適当なピキア（*Pichia*）種としては、特に限定されないが、ピキア・パストリス（*Pichia pastoris*）が挙げられる。本明細書に記載の本発明の一実施形態（下記）では、適当な宿主内で完全長ポリヌクレオチドを発現させた後に、Ab7の酵素消化（例えば、パパイン）によりFabフラグメントを作製してもよい。本発明の別の実施形態では、CHO、NSOもしくはHEK293細胞などの哺乳動物細胞、真菌、昆虫、植物、動物、または細菌細胞もしくは酵母細胞（例えば、二倍体ピキア属（*Pic*

50

h i a) のような二倍体酵母) その他の酵母菌株などの微生物系での A b 7 ポリヌクレオチドの発現により、A b 7 またはその F a b フラグメントのような抗 N G F 抗体を作製してもよい。適当なピキア (P i c h i a) 種としては、特に限定されないが、ピキア・パストリス (P i c h i a p a s t o r i s) が挙げられる。

【0497】

抗体 A b 8

別の実施形態では、さらに本発明は、N G F と T r k A との結合および N G F と T r k A との結合を阻害する抗 N G F 抗体およびそのフラグメントをコードするポリヌクレオチドに関する。さらに本発明は、N G F に対する結合特異性を有する抗体ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドに関する。本発明の一実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、配列番号 71 の可変軽鎖ポリペプチド配列をコードする次のようなポリヌクレオチド配列を含むか、あるいはこれよりなる：

10

【0498】

G A C A T C C A G A T G A C C C A G T C T C C A T C C T C C C T G T C T G C A
T C T G T A G G A G A C A G A G T C A C C A T C A C T T G C C A G G C C A G T G
A G G A C A T T T A C A A C T T A T T G G C C T G G T A T C A G C A G A A A C C
A G G G A A A G T C C C T A A G C T C C T G A T C T A T T C T G C A T C C A C T
C T G G C A T C T G G G G T C C C A T C T C G T T T C A G T G G C A G T G G A T
C T G G G A C A G A T T A C A C T C T C A C C A T C A G C A G C C T G C A G C C
T G A A G A T G T T G C A A C T T A T T A C T G T C A A A A C A A C T A T C T T
G T T A C T A C T T A T G G T G T T G C T T T C G G C G G A G G A A C C A A G G
T G G A A A T C A A A C G T (配列番号 271)。

20

【0499】

本発明の一実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、配列番号 72 の軽鎖ポリペプチド配列をコードする次のようなポリヌクレオチド配列を含むか、あるいはこれよりなる：

【0500】

G A C A T C C A G A T G A C C C A G T C T C C A T C C T C C C T G T C T G C A
T C T G T A G G A G A C A G A G T C A C C A T C A C T T G C C A G G C C A G T G
A G G A C A T T T A C A A C T T A T T G G C C T G G T A T C A G C A G A A A C C
A G G G A A A G T C C C T A A G C T C C T G A T C T A T T C T G C A T C C A C T
C T G G C A T C T G G G G T C C C A T C T C G T T T C A G T G G C A G T G G A T
C T G G G A C A G A T T A C A C T C T C A C C A T C A G C A G C C T G C A G C C
T G A A G A T G T T G C A A C T T A T T A C T G T C A A A A C A A C T A T C T T
G T T A C T A C T T A T G G T G T T G C T T T C G G C G G A G G A A C C A A G G
T G G A A A T C A A A C G T A C G G T A G C G G C C C C A T C T G T C T T C A T
C T T C C C G C C A T C T G A T G A G C A G T T G A A A T C T G G A A C T G C C
T C T G T T G T G T G C C T G C T G A A T A A C T T C T A T C C C A G A G A G G
C C A A A G T A C A G T G G A A G G T G G A T A A C G C C C T C C A A T C G G G
T A A C T C C C A G G A G A G T G T C A C A G A G C A G G A C A G C A A G G A C
A G C A C C T A C A G C C T C A G C A G C A C C C T G A C G C T G A G C A A A G
C A G A C T A C G A G A A A C A C A A A G T C T A C G C C T G C G A A G T C A C
C C A T C A G G G C C T G A G C T C G C C C G T C A C A A A G A G C T T C A A C
A G G G G A G A G T G T T A G (配列番号 272)。

30

40

【0501】

本発明の別の実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、配列番号 73 の可変重鎖ポリペプチド配列をコードする次のようなポリヌクレオチド配列を含むか、あるいはこれよりなる：

【0502】

C A G G T A C A G C T G G T G G A G T C T G G T G G A G G C G T G G T C C A G

50

CCTGGGAGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGTCAGCTTCTTGGAAT
TCACCTTTCAGTAGCTATGCAATGATCTGGGTCCGCCAGGC
TCCAGGGAAGGGGCTGGAATACATCGGATACATTGATACT
GATACTAGCGCATACTACGCAAGCAGTGTGAAAGGCCCGAT
TCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACAACGCTGTACCT
GCAAATGTCTAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCTGTGTAT
TACTGTGCTAGATCTTATGCTGCTTATGGTGGTTATCCTG
CTACTTTTGTATCCCTGGGGGCCAAGGTACCCCTCGTCAACCGT
CTCGAGC（配列番号273）。

【0503】

本発明の一実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、配列番号74の重鎖ポリペプチド配列をコードする次のようなポリヌクレオチド配列を含むか、あるいはこれよりなる：

CAGGTACAGCTGGTGGAGTCTGGTGGAGGCGTGGTCCAGC
CTGGGAGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGTCAGCTTCTTGGAATT
CACCTTTCAGTAGCTATGCAATGATCTGGGTCCGCCAGGCT
CCAGGGAAGGGGCTGGAATACATCGGATACATTGATACTG
ATACTAGCGCATACTACGCAAGCAGTGTGAAAGGCCCGATT
CACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACAACGCTGTACCTG
CAAATGTCTAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCTGTGTATT
ACTGTGCTAGATCTTATGCTGCTTATGGTGGTTATCCTGCT
TACTTTTGTATCCCTGGGGGCCAAGGTACCCCTCGTCAACCGTC
TCGAGCGCCTCCACCAAGGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGG
CACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGGCACAGCGGCCCT
GGGCTGCTTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACG
GTGTCGTGGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACA
CCTTCCCCGGCTGTCTCTACAGTCTCTCAGGACTCTACTCCCT
CAGCAGCGTGGTGAACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGGCACCC
CAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAAGCCCAGCAACA
CCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCCAATCTTGTGACAA
AACTCACACATGCCCAACCGTGCCCAAGCACCTGAACCTCCTG
GGGGGACCGTCAGTCTTCTCTTCCCCCACAACCCCAAGG
ACACCCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCAACATGCGT
GGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCCTGAGGTCAAGTTTC
AACTGGTACGTGGACGGCGTGAGAGGTGCATAATGCCAAGA
CAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACGCCAGCACGTACCGTGT
GGTCAGCGTCTCTACCGTCTCTGCACCAGGACTGGCTGAAT
GGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAGCCCTCC
CAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAGCCAAAGGGCA
GCCCCGAGAACCAACAGGTGTACACCCCTGCCCCCATCCCGG
GAGGAGATGACCAAGAACCAAGGTACAGCCTGACCTGCCTGG
TCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGA
GAGCAATGGGCAAGCCGGAGAACAACTACAAGACCAACGCCCT
CCCGTGTCTGGACTCCGACGGGCTCCTTCTTCTCTACAGCA
AGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGT
CTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAAACCACT
TACACGCAGAAAGAGCCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAATGA（
配列番号274）。

【0504】

本発明のさらなる実施形態では、NGFに対する結合特異性を有する抗体フラグメント

10

20

30

40

50

をコードするポリヌクレオチドは、配列番号 7 1 の軽鎖可変配列または配列番号 7 2 の軽鎖配列の相補性決定領域（CDRまたは超可変領域）をコードするポリヌクレオチドに対応する配列番号 2 7 5、配列番号 2 7 6 および配列番号 2 7 7 のポリヌクレオチド配列を 1 つ以上含むか、あるいはこれよりなる。

【0505】

本発明のさらなる実施形態では、NGF に対する結合特異性を有する抗体フラグメントをコードするポリヌクレオチドは、配列番号 7 3 の重鎖可変配列または配列番号 7 4 の重鎖配列の相補性決定領域（CDRまたは超可変領域）をコードするポリヌクレオチドに対応する配列番号 2 7 8、配列番号 2 7 9 および配列番号 2 8 0 のポリヌクレオチド配列を 1 つ以上含むか、あるいはこれよりなる。

【0506】

また本発明は、本明細書に記載の抗体フラグメントをコードするポリヌクレオチド配列を 1 つ以上含むポリヌクレオチド配列も企図する。本発明の一実施形態では、NGF に対する結合特異性を有する抗体フラグメントをコードするポリヌクレオチドは、抗体フラグメントをコードする次のようなポリヌクレオチドを、そのすべても含め、1 つ、2 つ、3 つまたはそれ以上含むか、あるいはこれよりなる：配列番号 7 1 の軽鎖可変配列をコードするポリヌクレオチド配列番号 2 7 1；配列番号 7 2 の軽鎖配列をコードするポリヌクレオチド配列番号 2 7 2；配列番号 7 3 の重鎖可変配列をコードするポリヌクレオチド配列番号 2 7 3；配列番号 7 4 の重鎖配列をコードするポリヌクレオチド配列番号 2 7 4；配列番号 7 1 の軽鎖可変配列または配列番号 7 2 の軽鎖配列の相補性決定領域をコードするポリヌクレオチド（配列番号 2 7 5、配列番号 2 7 6 および配列番号 2 7 7）；および配列番号 7 3 の重鎖可変配列または配列番号 7 4 の重鎖配列の相補性決定領域をコードするポリヌクレオチド（配列番号 2 7 8、配列番号 2 7 9 および配列番号 2 8 0）。

【0507】

本発明の好適な実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、NGF に対する結合特異性を有する Fab（抗原結合フラグメント）フラグメントをコードするポリヌクレオチドを含むか、あるいはこれよりなる。抗体 Ab 8 に関して、完全長 Ab 8 抗体をコードするポリヌクレオチドは、配列番号 7 2 の軽鎖配列をコードするポリヌクレオチド配列番号 2 7 2 および配列番号 7 4 の重鎖配列をコードするポリヌクレオチド配列番号 2 7 4 を含むか、あるいはこれよりなる。

【0508】

本発明の別の実施形態は、CHO、NSO、HEK-293 などの哺乳動物細胞で、または真菌、昆虫、植物、動物で、または細菌細胞もしくは酵母ピキア（*Pichia*）のような酵母細胞などの微生物系で発現させるために発現ベクター内に組み込んだ、上記ポリヌクレオチドを企図する。適当なピキア（*Pichia*）種としては、特に限定されないが、ピキア・パストリス（*Pichia pastoris*）が挙げられる。本明細書に記載の本発明の一実施形態（下記）では、適当な宿主内で完全長ポリヌクレオチドを発現させた後に、Ab 8 の酵素消化（例えば、パバイン）により Fab フラグメントを作製してもよい。本発明の別の実施形態では、CHO、NSO もしくは HEK 293 細胞などの哺乳動物細胞、真菌、昆虫、植物、または酵母細胞（例えば、二倍体ピキア属（*Pichia*）のような二倍体酵母）その他の酵母菌株などの微生物系での Ab 8 ポリヌクレオチドの発現により、Ab 8 またはその Fab フラグメントのような抗 NGF 抗体を作製してもよい。適当なピキア（*Pichia*）種としては、特に限定されないが、ピキア・パストリス（*Pichia pastoris*）が挙げられる。

【0509】

抗体 Ab 9

別の実施形態では、さらに本発明は、NGF と Trk A との結合および NGF と Trk A との結合を阻害する抗 NGF 抗体およびそのフラグメントをコードするポリヌクレオチドに関する。さらに本発明は、NGF に対する結合特異性を有する抗体ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドに関する。本発明の一実施形態では、本発明のポリヌクレオチ

ドは、配列番号 8 1 の可変軽鎖ポリペプチド配列をコードする次のようなポリヌクレオチド配列を含むか、あるいはこれよりなる：

【0510】

G C C T A T G A T A T G A C C C A G A C T C C A G C C T C C G T G T C T G C A
G C T G T G G G A G G C A C A G T C A C C A T C A A G T G C C A G G C C A G T G
A G A A C A T T G G T A G C T A C T T A G C C T G G T A T C A G C A G A A A C C
A G G G C A G C C T C C C G A A C T C C T G A T C T A C A G G G C G T C C A C T
C T G G C A T C T G G G G T C C C A T C G C G G T T C A A A G G C A G T G G A T
C T G G G A C A C A G T T C A C T C T C A C C A T C A G C G G C G T G G A G T G
T G C C G A T G C T G C C A C T T A C T A C T G T C A A C A G G G T T A T A A T
A G T G A G A A T C T T G A T A A T G C T T T C G G C G G A G G G A C C G A G G
T G G T G G T C A A A C G T (配列番号 281)。

10

【0511】

本発明の一実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、配列番号 8 2 の軽鎖ポリペプチド配列をコードする次のようなポリヌクレオチド配列を含むか、あるいはこれよりなる：

【0512】

G C C T A T G A T A T G A C C C A G A C T C C A G C C T C C G T G T C T G C A
G C T G T G G G A G G C A C A G T C A C C A T C A A G T G C C A G G C C A G T G
A G A A C A T T G G T A G C T A C T T A G C C T G G T A T C A G C A G A A A C C
A G G G C A G C C T C C C G A A C T C C T G A T C T A C A G G G C G T C C A C T
C T G G C A T C T G G G G T C C C A T C G C G G T T C A A A G G C A G T G G A T
C T G G G A C A C A G T T C A C T C T C A C C A T C A G C G G C G T G G A G T G
T G C C G A T G C T G C C A C T T A C T A C T G T C A A C A G G G T T A T A A T
A G T G A G A A T C T T G A T A A T G C T T T C G G C G G A G G G A C C G A G G
T G G T G G T C A A A C G T A C G G T A G C G G C C C C A T C T G T C T T C A T
C T T C C C G C C A T C T G A T G A G C A G T T G A A A T C T G G A A C T G C C
T C T G T T G T G T G C C T G C T G A A T A A C T T C T A T C C C A G A G A G G
C C A A A G T A C A G T G G A A G G T G G A T A A C G C C C T C C A A T C G G G
T A A C T C C C A G G A G A G T G T C A C A G A G C A G G A C A G C A A G G A C
A G C A C C T A C A G C C T C A G C A G C A C C C T G A C G C T G A G C A A A G
C A G A C T A C G A G A A A C A C A A A G T C T A C G C C T G C G A A G T C A C
C C A T C A G G G C C T G A G C T C G C C C G T C A C A A A G A G C T T C A A C
A G G G G A G A G T G T T A G (配列番号 282)。

20

30

【0513】

本発明の別の実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、配列番号 8 3 の可変重鎖ポリペプチド配列をコードする次のようなポリヌクレオチド配列を含むか、あるいはこれよりなる：

【0514】

C A G T C G G T G G A G G A G T C C G G G G G T C G C C T G G T C A C G C C T
G G G A C A C C C C T G A C A C T C A C C T G C A C A G T C T C T G G A A T C G
A C C T C A G T A T G T A T T C A A T G G G C T G G G T C C G C C A G G C T C C
A G G G A A G G G G C T G G A A T A C A T C G G A T G G A T T A G T T A T G G T
G G T A C T G C A T A T T A C G C G A G C T G G G C G A A G G G C C G A T T C A
C C A T C T C C A A A A C C T C G A C C A C G G T G G A G C T G A A G A T C A C
C A G T C C G A C A A T C G A G G A C A C G G C C A C C T A T T T C T G T G C C
A G A G A G A C T C C T G T T A A T T A T T A T T T G G A C A T T T G G G G C C
A G G G G A C C C T C G T C A C C G T C T C G A G C (配列番号 283)。

40

【0515】

本発明の一実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、配列番号 8 4 の重鎖ポリペ

50

チド配列をコードする次のようなポリヌクレオチド配列を含むか、あるいはこれよりなる：

C A G T C G G T G G A G G A G T C C G G G G G T C G C C T G G T C A C G C C T G
G G A C A C C C C T G A C A C T C A C C T G C A C A G T C T C T G G A A T C G A
C C T C A G T A T G T A T T C A A T G G G C T G G G T C C G C C A G G C T C C A
G G G A A G G G G C T G G A A T A C A T C G G A T G G A T T A G T T A T G G T G
G T A C T G C A T A T T A C G C G A G C T G G G C G A A G G G C C G A T T C A C
C A T C T C C A A A A C C T C G A C C A C G G T G G A G C T G A A G A T C A C C
A G T C C G A C A A T C G A G G A C A C G G C C A C C T A T T T C T G T G C C A
G A G A G A C T C C T G T T A A T T A T T A T T T G G A C A T T T G G G G C C A
G G G G A C C C T C G T C A C C G T C T C G A G C G C C T C C A C C A A G G G C
C C A T C G G T C T T C C C C C T G G C A C C C T C C T C C A A G A G C A C C T
C T G G G G G C A C A G C G G C C C T G G G C T G C C T G G T C A A G G A C T A
C T T C C C C G A A C C G G T G A C G G T G T C G T G G A A C T C A G G C G C C
C T G A C C A G C G G C G T G C A C A C C T T C C C G G C T G T C C T A C A G T
C C T C A G G A C T C T A C T C C C T C A G C A G C G T G G T G A C C G T G C C
C T C C A G C A G C T T G G G C A C C C A G A C C T A C A T C T G C A A C G T G
A A T C A C A A G C C C A G C A A C A C C A A G G T G G A C A A G A G A G T T G
A G C C C A A A T C T T G T G A C A A A A C T C A C A C A T G C C C A C C G T G
C C C A G C A C C T G A A C T C C T G G G G G G A C C G T C A G T C T T C C T C
T T C C C C C C A A A A C C C A A G G A C A C C C T C A T G A T C T C C C G G A
C C C C T G A G G T C A C A T G C G T G G T G G T G G A C G T G A G C C A C G A
A G A C C C T G A G G T C A A G T T C A A C T G G T A C G T G G A C G G C G T G
G A G G T G C A T A A T G C C A A G A C A A A G C C G C G G G A G G A G C A G T
A C G C C A G C A C G T A C C G T G T G G T C A G C G T C C T C A C C G T C C T
G C A C C A G G A C T G G C T G A A T G G C A A G G A G T A C A A G T G C A A G
G T C T C C A A C A A A G C C C T C C C A G C C C C C A T C G A G A A A A C C A
T C T C C A A A G C C A A A G G G C A G C C C C G A G A A C C A C A G G T G T A
C A C C C T G C C C C C A T C C C G G G A G G A G A T G A C C A A G A A C C A G
G T C A G C C T G A C C T G C C T G G T C A A A G G C T T C T A T C C C A G C G
A C A T C G C C G T G G A G T G G G A G A G C A A T G G G C A G C C G G A G A A
C A A C T A C A A G A C C A C G C C T C C C G T G C T G G A C T C C G A C G G C
T C C T T C T T C C T C T A C A G C A A G C T C A C C G T G G A C A A G A G C A
G G T G G C A G C A G G G G A A C G T C T T C T C A T G C T C C G T G A T G C A
T G A G G C T C T G C A C A A C C A C T A C A C G C A G A A G A G C C T C T C C
C T G T C T C C G G G T A A A T G A (配列番号 284)。

【0516】

本発明のさらなる実施形態では、NGFに対する結合特異性を有する抗体フラグメントをコードするポリヌクレオチドは、配列番号81の軽鎖可変配列または配列番号82の軽鎖配列の相補性決定領域(CDRまたは超可変領域)をコードするポリヌクレオチドに対応する配列番号285、配列番号286および配列番号287のポリヌクレオチド配列を1つ以上含むか、あるいはこれよりなる。

【0517】

本発明のさらなる実施形態では、NGFに対する結合特異性を有する抗体フラグメントをコードするポリヌクレオチドは、配列番号83の重鎖可変配列または配列番号84の重鎖配列の相補性決定領域(CDRまたは超可変領域)をコードするポリヌクレオチドに対応する配列番号288、配列番号289および配列番号290のポリヌクレオチド配列を1つ以上含むか、あるいはこれよりなる。

【0518】

また本発明は、本明細書に記載の抗体フラグメントをコードするポリヌクレオチド配列

10

20

30

40

50

を1つ以上含むポリヌクレオチド配列も企図する。本発明の一実施形態では、NGFに対する結合特異性を有する抗体フラグメントをコードするポリヌクレオチドは、抗体フラグメントをコードする次のようなポリヌクレオチドを、そのすべても含め、1つ、2つ、3つまたはそれ以上含むか、あるいはこれよりなる：配列番号81の軽鎖可変配列をコードするポリヌクレオチド配列番号281；配列番号82の軽鎖配列をコードするポリヌクレオチド配列番号282；配列番号83の重鎖可変配列をコードするポリヌクレオチド配列番号283；配列番号84の重鎖配列をコードするポリヌクレオチド配列番号284；配列番号81の軽鎖可変配列または配列番号82の軽鎖配列の相補性決定領域をコードするポリヌクレオチド（配列番号285、配列番号286および配列番号287）；および配列番号83の重鎖可変配列または配列番号84の重鎖配列の相補性決定領域をコードするポリヌクレオチド（配列番号288、配列番号289および配列番号290）。

10

【0519】

本発明の好適な実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、NGFに対する結合特異性を有するFab（抗原結合フラグメント）フラグメントをコードするポリヌクレオチドを含むか、あるいはこれよりなる。抗体Ab9に関して、完全長Ab9抗体をコードするポリヌクレオチドは、配列番号82の軽鎖配列をコードするポリヌクレオチド配列番号282および配列番号84の重鎖配列をコードするポリヌクレオチド配列番号284を含むか、あるいはこれよりなる。

【0520】

本発明の別の実施形態は、CHO、NSO、HEK-293などの哺乳動物細胞で、または真菌、昆虫、植物、動物で、または細菌細胞もしくは酵母ピキア（*Pichia*）のような酵母細胞などの微生物系で発現させるために発現ベクター内に組み込んだ、上記ポリヌクレオチドを企図する。適当なピキア（*Pichia*）種としては、特に限定されないが、ピキア・パストリス（*Pichia pastoris*）が挙げられる。本明細書に記載の本発明の一実施形態（下記）では、適当な宿主内で完全長ポリヌクレオチドを発現させた後に、Ab9の酵素消化（例えば、パバイン）によりFabフラグメントを作製してもよい。本発明の別の実施形態では、CHO、NSOもしくはHEK293細胞などの哺乳動物細胞、真菌、昆虫、植物、または酵母細胞（例えば、二倍体ピキア属（*Pichia*）のような二倍体酵母）その他の酵母菌株などの微生物系でのAb9ポリヌクレオチドの発現により、Ab9またはそのFabフラグメントのような抗NGF抗体を作製してもよい。適当なピキア（*Pichia*）種としては、特に限定されないが、ピキア・パストリス（*Pichia pastoris*）が挙げられる。

20

30

【0521】

抗体Ab10

別の実施形態では、さらに本発明は、NGFとTrkAとの結合およびNGFとTrkAとの結合を阻害する抗NGF抗体およびそのフラグメントをコードするポリヌクレオチドに関する。さらに本発明は、NGFに対する結合特異性を有する抗体ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドに関する。本発明の一実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、配列番号91の可変軽鎖ポリペプチド配列をコードする次のようなポリヌクレオチド配列を含むか、あるいはこれよりなる：

40

【0522】

G C C T A T G A T A T G A C C C A G T C T C C A T C C T C C C T G T C T G C A
T C T G T A G G A G A C A G A G T C A C C A T C A C T T G C C A G G C C A G T G
A G A A C A T T G G T A G C T A C T T A G C C T G G T A T C A G C A G A A A C C
A G G G A A A G T C C C T A A G C T C C T G A T C T A T A G G G C T T C C A C T
C T G G C A T C T G G G G T C C C A T C T C G T T T C A G T G G C A G T G G A T
C T G G G A C A G A T T T C A C T C T C A C C A T C A G C A G C C T G C A G C C
T G A A G A T G T T G C A A C T T A T T A C T G T C A A C A G G G T T A C A A T
A G T G A G A A T C T T G A T A A T G C T T T C G G C G G A G G A A C C A A G G
T G G A A A T C A A A C G T（配列番号291）。

50

【0523】

本発明の一実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、配列番号92の軽鎖ポリペプチド配列をコードする次のようなポリヌクレオチド配列を含むか、あるいはこれよりなる：

G C C T A T G A T A T G A C C C A G T C T C C A T C C T C C C T G T C T G C A
T C T G T A G G A G A C A G A G T C A C C A T C A C T T G C C A G G C C A G T G
A G A A C A T T G G T A G C T A C T T A G C C T G G T A T C A G C A G A A A C C
A G G G A A A G T C C C T A A G C T C C T G A T C T A T A G G G C T T C C A C T
C T G G C A T C T G G G G T C C C A T C T C G T T T C A G T G G C A G T G G A T
C T G G G A C A G A T T T C A C T C T C A C C A T C A G C A G C C T G C A G C C
T G A A G A T G T T G C A A C T T A T T A C T G T C A A C A G G G T T A C A A T
A G T G A G A A T C T T G A T A A T G C T T T C G G C G G A G G A A C C A A G G
T G G A A A T C A A A C G T A C G G T A G C G G C C C C A T C T G T C T T C A T
C T T C C C G C C A T C T G A T G A G C A G T T G A A A T C T G G A A C T G C C
T C T G T T G T G T G C C T G C T G A A T A A C T T C T A T C C C A G A G A G G
C C A A A G T A C A G T G G A A G G T G G A T A A C G C C C T C C A A T C G G G
T A A C T C C C A G G A G A G T G T C A C A G A G C A G G A C A G C A A G G A C
A G C A C C T A C A G C C T C A G C A G C A C C C T G A C G C T G A G C A A A G
C A G A C T A C G A G A A A C A C A A A G T C T A C G C C T G C G A A G T C A C
C C A T C A G G G C C T G A G C T C G C C C G T C A C A A A G A G C T T C A A C
A G G G G A G A G T G T T A G (配列番号292)。

10

20

【0524】

本発明の別の実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、配列番号93の可変重鎖ポリペプチド配列をコードする次のようなポリヌクレオチド配列を含むか、あるいはこれよりなる：

【0525】

C A G G T A C A G C T G G T G G A G T C T G G T G G A G G C G T G G T C C A G
C C T G G G A G G T C C C T G A G A C T C T C C T G T G C A G C T T C T G G A T
T C A C C T T C A G T A T G T A T T C A A T G G G C T G G G T C C G C C A G G C
T C C A G G G A A G G G G C T G G A A T A C A T C G G A T G G A T T A G T T A T
G G T G G T A C T G C A T A C T A C G C T A G C A G C G C T A A G G G C C G A T
T C A C C A T C T C C A G A G A C A A T T C C A A G A A C A C G C T G T A C C T
G C A A A T G T C T A G C C T G A G A G C C G A G G A C A C G G C T G T G T A T
T A C T G T G C T A G A G A G A C T C C T G T T A A T T A C T A C T T G G A C A
T T T G G G G C C A A G G T A C C C T C G T C A C C G T C T C G A G C (配列番号
293)。

30

【0526】

本発明の一実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、配列番号94の重鎖ポリペプチド配列をコードする次のようなポリヌクレオチド配列を含むか、あるいはこれよりなる：

40

C A G G T A C A G C T G G T G G A G T C T G G T G G A G G C G T G G T C C A G C
C T G G G A G G T C C C T G A G A C T C T C C T G T G C A G C T T C T G G A T T
C A C C T T C A G T A T G T A T T C A A T G G G C T G G G T C C G C C A G G C T
C C A G G G A A G G G G C T G G A A T A C A T C G G A T G G A T T A G T T A T G
G T G G T A C T G C A T A C T A C G C T A G C A G C G C T A A G G G C C G A T T
C A C C A T C T C C A G A G A C A A T T C C A A G A A C A C G C T G T A C C T G
C A A A T G T C T A G C C T G A G A G C C G A G G A C A C G G C T G T G T A T T
A C T G T G C T A G A G A G A C T C C T G T T A A T T A C T A C T T G G A C A T
T T G G G G C C A A G G T A C C C T C G T C A C C G T C T C G A G C G C C T C C
A C C A A G G G C C C A T C G G T C T T C C C C C T G G C A C C C T C C T C C A

50

AGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCCTGGT
CAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCGTGGAAAC
TCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCCGGCTG
TCCTACAGTCCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGT
GACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCAACCCAGACCTACATC
TGCAACGTGAATCACAAAGCCCCAGCAACACCAAGGTGGACA
AGAGAGTTGAGCCCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACATG
CCCCACCGTGCCCCAGCACCTGAACCTCTGGGGGGGACCGTCA
GTCTTCCCTCTTCCCCCCCAAACCCAAAGGACACCCCTCATGA
TCTCCCGGACCCCTGAGGTCAACATGCGTGGTGGTGGACGT
GAGCCACGAAGACCCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTG
GACGGCGTGGAAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGG
AGGAGCAGTACGCCAGCACGTACCGTGTGGTCAAGCGTCCCT
CACCGTCCCTGCACCCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTAC
AAGTGCAAAGGTCTCCAACAAGCCCTCCAGCCCCCATCG
AGAAAACCATCTCCAAGGCCAAGGGCAGCCCCGAGAACCC
ACAGGTGTACACCCCTGCCCCCATCCCCGGGAGGAGATGACC
AAGAACCCAGGTCAAGCCTGACCTGGCTCAAAGGCTTCTT
ATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCA
GCCGGAGAAACAACCTACAAGACCAACGCCCTCCCGTGCTGGAC
TCCGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGG
ACAAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTC
CGTGATGCAATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAAG
AGCCTCTTCCCTGTCTCCGGGTAAATGA（配列番号294）。

10

20

【0527】

本発明のさらなる実施形態では、NGFに対する結合特異性を有する抗体フラグメントをコードするポリヌクレオチドは、配列番号91の軽鎖可変配列または配列番号92の軽鎖配列の相補性決定領域（CDRまたは超可変領域）をコードするポリヌクレオチドに対応する配列番号295、配列番号296および配列番号297のポリヌクレオチド配列を1つ以上含むか、あるいはこれよりなる。

30

【0528】

本発明のさらなる実施形態では、NGFに対する結合特異性を有する抗体フラグメントをコードするポリヌクレオチドは、配列番号93の重鎖可変配列または配列番号94の重鎖配列の相補性決定領域（CDRまたは超可変領域）をコードするポリヌクレオチドに対応する配列番号298、配列番号299および配列番号300のポリヌクレオチド配列を1つ以上含むか、あるいはこれよりなる。

【0529】

また本発明は、本明細書に記載の抗体フラグメントをコードするポリヌクレオチド配列を1つ以上含むポリヌクレオチド配列も企図する。本発明の一実施形態では、NGFに対する結合特異性を有する抗体フラグメントをコードするポリヌクレオチドは、抗体フラグメントをコードする次のようなポリヌクレオチドを、そのすべても含め、1つ、2つ、3つまたはそれ以上含むか、あるいはこれよりなる：配列番号91の軽鎖可変配列をコードするポリヌクレオチド配列番号291；配列番号92の軽鎖配列をコードするポリヌクレオチド配列番号292；配列番号93の重鎖可変配列をコードするポリヌクレオチド配列番号293；配列番号94の重鎖配列をコードするポリヌクレオチド配列番号294；配列番号91の軽鎖可変配列または配列番号92の軽鎖配列の相補性決定領域をコードするポリヌクレオチド（配列番号295、配列番号296および配列番号297）；および配列番号93の重鎖可変配列または配列番号94の重鎖配列の相補性決定領域（配列番号298、配列番号299および配列番号300）をコードするポリヌクレオチド。

40

【0530】

50

本発明の好適な実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、NGFに対する結合特異性を有するFab（抗原結合フラグメント）フラグメントをコードするポリヌクレオチドを含むか、あるいはこれよりなる。抗体Ab10に関して、完全長Ab10抗体をコードするポリヌクレオチドは、配列番号92の軽鎖配列をコードするポリヌクレオチド配列番号292および配列番号94の重鎖配列をコードするポリヌクレオチド配列番号294を含むか、あるいはこれよりなる。

【0531】

本発明の別の実施形態は、CHO、NSO、HEK-293などの哺乳動物細胞で、または真菌、昆虫、植物、動物で、または細菌細胞もしくは酵母ピキア（*Pichia*）のような酵母細胞などの微生物系で発現させるために発現ベクター内に組み込んだ、上記ポリヌクレオチドを企図する。適当なピキア（*Pichia*）種としては、特に限定されないが、ピキア・パストリス（*Pichia pastoris*）が挙げられる。本明細書に記載の本発明の一実施形態（下記）では、適当な宿主内で完全長ポリヌクレオチドを発現させた後に、Ab10の酵素消化（例えば、パパイン）によりFabフラグメントを作製してもよい。本発明の別の実施形態では、CHO、NSOもしくはHEK293細胞などの哺乳動物細胞、真菌、昆虫、植物、または酵母細胞（例えば、二倍体ピキア属（*Pichia*）のような二倍体酵母）その他の酵母菌株などの微生物系でのAb10ポリヌクレオチドの発現により、Ab10またはそのFabフラグメントのような抗NGF抗体を作製してもよい。適当なピキア（*Pichia*）種としては、特に限定されないが、ピキア・パストリス（*Pichia pastoris*）が挙げられる。

【0532】

抗体Ab11

別の実施形態では、さらに本発明は、NGFとTrkAとの結合およびNGFとTrkAとの結合を阻害する抗NGF抗体およびそのフラグメントをコードするポリヌクレオチドに関する。さらに本発明は、NGFに対する結合特異性を有する抗体ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドに関する。本発明の一実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、配列番号101の可変軽鎖ポリペプチド配列をコードする次のようなポリヌクレオチド配列を含むか、あるいはこれよりなる：

【0533】

G C A T T C G A A T T G A C C C A G A C T C C A T C C T C C G T G G A G G C A
G C T G T G G G A G G C A C A G T C A C C A T C A A G T G C C A G G C C A G T C
A G A A C A T T G T T A C C A A T T T A G C C T G G T A T C A A C A G A A A C C
A G G G C A G C C T C C C A A G C T C C T G A T C T A T G G T G C A T C C A C T
C T G G C A T C T G G G G T C T C A T C G C G G T T C A A A G G C A G T G G A T
C T G G G A C A C A G T T C A C T C T C A C C A T C A G C G A C C T G G A G T G
T G C C G A T G C T G C C A C T T A T T T C T G T C A G A G C T A T G A T G G T
T T T A A T A G T G C T G G G T T C G G C G G A G G G A C C G A G G T G G T G G
T C A A A C G T（配列番号301）。

【0534】

本発明の一実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、配列番号102の軽鎖ポリペプチド配列をコードする次のようなポリヌクレオチド配列を含むか、あるいはこれよりなる：

【0535】

G C A T T C G A A T T G A C C C A G A C T C C A T C C T C C G T G G A G G C A
G C T G T G G G A G G C A C A G T C A C C A T C A A G T G C C A G G C C A G T C
A G A A C A T T G T T A C C A A T T T A G C C T G G T A T C A A C A G A A A C C
A G G G C A G C C T C C C A A G C T C C T G A T C T A T G G T G C A T C C A C T
C T G G C A T C T G G G G T C T C A T C G C G G T T C A A A G G C A G T G G A T
C T G G G A C A C A G T T C A C T C T C A C C A T C A G C G A C C T G G A G T G
T G C C G A T G C T G C C A C T T A T T T C T G T C A G A G C T A T G A T G G T

TTTAATAGTGCTGGGTTCGGCGGAGGGACCGAGGTGGTGG
TCAAACGTACGGTAGCGGCCCCCATCTGTCTTCACTTCCC
GCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAACTGCCCTCTGTT
GTGTGCCCTGCTGAATAACTTCTATCCCCAGAGAGGCCAAAG
TACAGTGGAAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTC
CCAGGAGAGTGTCACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCC
TACAGCCTCAGCAGCACCCCTGACGCTGAGCAAAGCAGACT
ACGAGAAACACAAAGTCTACGCCCTGCGAAGTCAACCCATCA
GGGCCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGA
GAGTGTTAG (配列番号302)。

10

【0536】

本発明の別の実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、配列番号103の可変重鎖ポリペプチド配列をコードする次のようなポリヌクレオチド配列を含むか、あるいはこれよりなる：

【0537】

CAGTCGCTGGAGGAGTCCGGGGGGTTCGCCCTGGTCAACGCCCT
GGGACACCCCTGACACTCACCTGCACAGCCTCTGGATTCT
CCCTCAGTGGCTACGACATGAGCTGGGTCCGCCAGGCTCC
AGGAAAGGGGCTGGAATACATCGGACTCATTTAGTTATGAT
GGTAACACATACTACGCGACCTGGGCGAAAGGCCCGATTCA
CCATCTCCAAAACCTCGACCAACGGTGGATCTGAAAATCAC
CAGTCCGACAACCGAGGACACGGCCACCTATTTCTGTGCC
AGAAGTCTTTATGCTGGTCCCTAATGCTGGTATCGGACCGGT
TTAACATCTGGGGCCAGGGGACCCCTCGTCAACCGTCTCGAG
C (配列番号303)。

20

【0538】

本発明の一実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、配列番号104の重鎖ポリペプチド配列をコードする次のようなポリヌクレオチド配列を含むか、あるいはこれよりなる：

CAGTCGCTGGAGGAGTCCGGGGGGTTCGCCCTGGTCAACGCCCTG
GGACACCCCTGACACTCACCTGCACAGCCTCTGGATTCTCTC
CCTCAGTGGCTACGACATGAGCTGGGTCCGCCAGGCTCCA
GGAAAGGGGCTGGAATACATCGGACTCATTTAGTTATGATG
GTAACACATACTACGCGACCTGGGCGAAAGGCCCGATTCA
CATCTCCAAAACCTCGACCAACGGTGGATCTGAAAATCAC
AGTCCGACAACCGAGGACACGGCCACCTATTTCTGTGCCA
GAAGTCTTTATGCTGGTCCCTAATGCTGGTATCGGACCGGTT
TAACATCTGGGGCCAGGGGACCCCTCGTCAACCGTCTCGAGC
GCCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGGACCCCT
CCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGGCACAGCGGCCCTGGGGCTG
CCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTG
TGGAACTCAGGCGCCCTGACCAAGCGGCGTGACACACCTTCC
CGGCTGTCTCTACAGTCTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAG
CGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACC
TACATCTGCAACGTGAATCACAAAGCCCAAGCAACACCAAGG
TGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTCA
CACATGCCCAACCGTGCCCAAGCACCTGAACCTCCTGGGGGGGA
CCGTCAAGTCTTCTCTTCCCCCAAACCAAGGACACCC
TCATGATCTCCCCGGACCCCTGAGGTCAACATGCGTGGTGGT
GGACGTGAGCCACGAAGACCCCTGAGGTCAAGTTCAACTGG

30

40

50

T A C G T G G A C G G C G T G G A G G T G C A T A A T G C C A A G A C A A A G C
C G C G G G A G G A G C A G T A C G C C A G C A C G T A C C G T G T G G T C A G
C G T C C T C A C C G T C C T G C A C C A G G A C T G G C T G A A T G G C A A G
G A G T A C A A G T G C A A G G T C T C C A A C A A A G C C C T C C C A G C C C
C C A T C G A G A A A A C C A T C T C C A A A G C C A A A G G G C A G C C C C G
A G A A C C A C A G G T G T A C A C C C T G C C C C C A T C C C G G G A G G A G
A T G A C C A A G A A C C A G G T C A G C C T G A C C T G C C T G G T C A A A G
G C T T C T A T C C C A G C G A C A T C G C C G T G G A G T G G G A G A G C A A
T G G G C A G C C G G A G A A C A A C T A C A A G A C C A C G C C T C C C G T G
C T G G A C T C C G A C G G C T C C T T C T T C C T C T A C A G C A A G C T C A
C C G T G G A C A A G A G C A G G T G G C A G C A G G G G A A C G T C T T C T C
A T G C T C C G T G A T G C A T G A G G C T C T G C A C A A C C A C T A C A C G
C A G A A G A G C C T C T C C C T G T C T C C G G G T A A A T G A (配列番号 304)。

10

【0539】

本発明のさらなる実施形態では、NGFに対する結合特異性を有する抗体フラグメントをコードするポリヌクレオチドは、配列番号101の軽鎖可変配列または配列番号102の軽鎖配列の相補性決定領域(CDRまたは超可変領域)をコードするポリヌクレオチドに対応する配列番号305、配列番号306および配列番号307のポリヌクレオチド配列を1つ以上含むか、あるいはこれよりなる。

20

【0540】

本発明のさらなる実施形態では、NGFに対する結合特異性を有する抗体フラグメントをコードするポリヌクレオチドは、配列番号103の重鎖可変配列または配列番号104の重鎖配列の相補性決定領域(CDRまたは超可変領域)をコードするポリヌクレオチドに対応する配列番号308、配列番号309および配列番号310のポリヌクレオチド配列を1つ以上含むか、あるいはこれよりなる。

【0541】

また本発明は、本明細書に記載の抗体フラグメントをコードするポリヌクレオチド配列を1つ以上含むポリヌクレオチド配列も企図する。本発明の一実施形態では、NGFに対する結合特異性を有する抗体フラグメントをコードするポリヌクレオチドは、抗体フラグメントをコードする次のようなポリヌクレオチドを、そのすべても含め、1つ、2つ、3つまたはそれ以上含むか、あるいはこれよりなる：配列番号101の軽鎖可変配列をコードするポリヌクレオチド配列番号301；配列番号102の軽鎖配列をコードするポリヌクレオチド配列番号302；配列番号103の重鎖可変配列をコードするポリヌクレオチド配列番号303；配列番号104の重鎖配列をコードするポリヌクレオチド配列番号304；配列番号101の軽鎖可変配列または配列番号102の軽鎖配列の相補性決定領域をコードするポリヌクレオチド(配列番号305、配列番号306および配列番号307)；および配列番号103の重鎖可変配列または配列番号104の重鎖配列の相補性決定領域をコードするポリヌクレオチド(配列番号308、配列番号309および配列番号310)。

30

40

【0542】

本発明の好適な実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、NGFに対する結合特異性を有するFab(抗原結合フラグメント)フラグメントをコードするポリヌクレオチドを含むか、あるいはこれよりなる。抗体Ab11に関して、完全長Ab11抗体をコードするポリヌクレオチドは、配列番号102の軽鎖配列をコードするポリヌクレオチド配列番号302および配列番号104の重鎖配列をコードするポリヌクレオチド配列番号304を含むか、あるいはこれよりなる。

【0543】

本発明の別の実施形態は、CHO、NSO、HEK-293などの哺乳動物細胞で、または真菌、昆虫、植物で、または酵母ピキア(Pichia)のような酵母細胞などの微

50

生物系で発現させるために発現ベクター内に組み込んだ、上記ポリヌクレオチドを企図する。適当なピキア（*P i c h i a*）種としては、特に限定されないが、ピキア・パストリス（*P i c h i a p a s t o r i s*）が挙げられる。本明細書に記載の本発明の一実施形態（下記）では、適当な宿主内で完全長ポリヌクレオチドを発現させた後に、A b 1 1の酵素消化（例えば、パパイン）によりF a bフラグメントを作製してもよい。本発明の別の実施形態では、C H O、N S OもしくはH E K 2 9 3細胞などの哺乳動物細胞、真菌、昆虫、植物、または酵母細胞（例えば、二倍体ピキア属（*P i c h i a*）のような二倍体酵母）その他の酵母菌株などの微生物系でのA b 1 1ポリヌクレオチドの発現により、A b 1 1またはそのF a bフラグメントのような抗N G F抗体を作製してもよい。適当なピキア（*P i c h i a*）種としては、特に限定されないが、ピキア・パストリス（*P i c h i a p a s t o r i s*）が挙げられる。

10

【0544】

抗体A b 1 2

別の実施形態では、さらに本発明は、N G FとT r k Aとの結合およびN G FとT r k Aとの結合を阻害する抗N G F抗体およびそのフラグメントをコードするポリヌクレオチドに関する。さらに本発明は、N G Fに対する結合特異性を有する抗体ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドに関する。本発明の一実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、配列番号1 1 1の可変軽鎖ポリペプチド配列をコードする次のようなポリヌクレオチド配列を含むか、あるいはこれよりなる：

【0545】

20

G C A T T C C A G A T G A C C C A G T C T C C A T C C T C C C T G T C T G C A
T C T G T A G G A G A C A G A G T C A C C A T C A C T T G C C A G G C C A G T C
A G A A C A T T G T T A C C A A C T T A G C C T G G T A T C A G C A G A A A C C
A G G G A A A G T C C C T A A G C T C C T G A T C T A T G G T G C A T C C A C T
C T G G C A T C T G G G G T C C C A T C T C G T T T C A G T G G C A G T G G A T
C T G G G A C A G A T T T C A C T C T C A C C A T C A G C A G C C T G C A G C C
T G A A G A T G T T G C A A C T T A T T A C T G T C A G A G C T A T G A T G G T
T T C A A T A G T G C T G G T T T C G G C G G A G G A A C C A A G G T G G A A A
T C A A A C G T（配列番号3 1 1）。

【0546】

30

本発明の一実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、配列番号1 1 2の軽鎖ポリペプチド配列をコードする次のようなポリヌクレオチド配列を含むか、あるいはこれよりなる：

【0547】

G C A T T C C A G A T G A C C C A G T C T C C A T C C T C C C T G T C T G C A
T C T G T A G G A G A C A G A G T C A C C A T C A C T T G C C A G G C C A G T C
A G A A C A T T G T T A C C A A C T T A G C C T G G T A T C A G C A G A A A C C
A G G G A A A G T C C C T A A G C T C C T G A T C T A T G G T G C A T C C A C T
C T G G C A T C T G G G G T C C C A T C T C G T T T C A G T G G C A G T G G A T
C T G G G A C A G A T T T C A C T C T C A C C A T C A G C A G C C T G C A G C C
T G A A G A T G T T G C A A C T T A T T A C T G T C A G A G C T A T G A T G G T
T T C A A T A G T G C T G G T T T C G G C G G A G G A A C C A A G G T G G A A A
T C A A A C G T A C G G T A G C G G C C C A T C T G T C T T C A T C T T C C C
G C C A T C T G A T G A G C A G T T G A A A T C T G G A A C T G C C T C T G T T
G T G T G C C T G C T G A A T A A C T T C T A T C C C A G A G A G G C C A A A G
T A C A G T G G A A G G T G G A T A A C G C C C T C C A A T C G G G T A A C T C
C C A G G A G A G T G T C A C A G A G C A G G A C A G C A A G G A C A G C A C C
T A C A G C C T C A G C A G C A C C C T G A C G C T G A G C A A A G C A G A C T
A C G A G A A A C A C A A A G T C T A C G C C T G C G A A G T C A C C C A T C A
G G G C C T G A G C T C G C C C G T C A C A A A G A G C T T C A A C A G G G A

40

50

G A G T G T T A G (配列番号 3 1 2)。

【0548】

本発明の別の実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、配列番号 1 1 3 の可変重鎖ポリペプチド配列をコードする次のようなポリヌクレオチド配列を含むか、あるいはこれよりなる：

【0549】

C A G G T A C A G C T G G T G G A G T C T G G T G G A G G C G T G G T C C A G
C C T G G G A G G T C C C T G A G A C T C T C C T G T G C A G C T T C T G G A T
T C T C C C T C A G T G G C T A C G A C A T G A G C T G G G T C C G T C A G G C
T C C A G G C A A G G G A C T G G A G T G G G T G G G A C T C A T T A G T T A T
G A T G G T A A C A C A T A C T A C G C G A C C T C C G C G A A A G G C C G A T
T C A C C A T C T C C A G A G A C A A T T C C A A G A A C A C G C T G T A C C T
G C A A A T G T C T A G C C T G A G A G C C G A G G A C A C G G C T G T G T A T
T A C T G T G C T A G A A G T C T T T A T G C T G G T C C T A A T G C T G G T A
T C G G A C C G T T T A A C A T C T G G G G C C A A G G T A C C C T C G T C A C
C G T C T C G A G C (配列番号 3 1 3)。

10

【0550】

本発明の一実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、配列番号 1 1 4 の重鎖ポリペプチド配列をコードする次のようなポリヌクレオチド配列を含むか、あるいはこれよりなる：

20

C A G G T A C A G C T G G T G G A G T C T G G T G G A G G C G T G G T C C A G C
C T G G G A G G T C C C T G A G A C T C T C C T G T G C A G C T T C T G G A T T
C T C C C T C A G T G G C T A C G A C A T G A G C T G G G T C C G T C A G G C T
C C A G G C A A G G G A C T G G A G T G G G T G G G A C T C A T T A G T T A T G
A T G G T A A C A C A T A C T A C G C G A C C T C C G C G A A A G G C C G A T T
C A C C A T C T C C A G A G A C A A T T C C A A G A A C A C G C T G T A C C T G
C A A A T G T C T A G C C T G A G A G C C G A G G A C A C G G C T G T G T A T T
A C T G T G C T A G A A G T C T T T A T G C T G G T C C T A A T G C T G G T A T
C G G A C C G T T T A A C A T C T G G G G C C A A G G T A C C C T C G T C A C C
G T C T C G A G C G C C T C C A C C A A G G G C C C A T C G G T C T T C C C C C
T G G C A C C C T C C T C C A A G A G C A C C T C T G G G G G C A C A G C G G C
C C T G G G C T G C C T G G T C A A G G A C T A C T T C C C C G A A C C G G T G
A C G G T G T C G T G G A A C T C A G G C G C C C T G A C C A G C G G C G T G C
A C A C C T T C C C G G C T G T C C T A C A G T C C T C A G G A C T C T A C T C
C C T C A G C A G C G T G G T G A C C G T G C C C T C C A G C A G C T T G G G C
A C C C A G A C C T A C A T C T G C A A C G T G A A T C A C A A G C C C A G C A
A C A C C A A G G T G G A C A A G A G A G T T G A G C C C A A A T C T T G T G A
C A A A A C T C A C A C A T G C C C A C C G T G C C C A G C A C C T G A A C T C
C T G G G G G G A C C G T C A G T C T T C C T C T T C C C C C C A A A A C C C A
A G G A C A C C C T C A T G A T C T C C C G G A C C C C T G A G G T C A C A T G
C G T G G T G G T G G A C G T G A G C C A C G A A G A C C C T G A G G T C A A G
T T C A A C T G G T A C G T G G A C G G C G T G G A G G T G C A T A A T G C C A
A G A C A A A G C C G C G G G A G G A G C A G T A C G C C A G C A C G T A C C G
T G T G G T C A G C G T C C T C A C C G T C C T G C A C C A G G A C T G G C T G
A A T G G C A A G G A G T A C A A G T G C A A G G T C T C C A A C A A A G C C C
T C C C A G C C C C C A T C G A G A A A A C C A T C T C C A A A G C C A A A G G
G C A G C C C C G A G A A C C A C A G G T G T A C A C C C T G C C C C C A T C C
C G G G A G G A G A T G A C C A A G A A C C A G G T C A G C C T G A C C T G C C
T G G T C A A A G G C T T C T A T C C C A G C G A C A T C G C C G T G G A G T G
G G A G A G C A A T G G G C A G C C G G A G A A C A A C T A C A A G A C C A C G

30

40

50

CCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTACA
GCAAGCTCACCGTGGAACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGA
CGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAAC
CACTACACGCAGAAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAAT
GA（配列番号314）。

【0551】

本発明のさらなる実施形態では、NGFに対する結合特異性を有する抗体フラグメントをコードするポリヌクレオチドは、配列番号111の軽鎖可変配列または配列番号112の軽鎖配列の相補性決定領域（CDRまたは超可変領域）をコードするポリヌクレオチドに対応する配列番号315、配列番号316および配列番号317のポリヌクレオチド配列を1つ以上含むか、あるいはこれよりなる。

10

【0552】

本発明のさらなる実施形態では、NGFに対する結合特異性を有する抗体フラグメントをコードするポリヌクレオチドは、配列番号113の重鎖可変配列または配列番号114の重鎖配列の相補性決定領域（CDRまたは超可変領域）をコードするポリヌクレオチドに対応する配列番号318、配列番号319および配列番号320のポリヌクレオチド配列を1つ以上含むか、あるいはこれよりなる。

【0553】

また本発明は、本明細書に記載の抗体フラグメントをコードするポリヌクレオチド配列を1つ以上含むポリヌクレオチド配列も企図する。本発明の一実施形態では、NGFに対する結合特異性を有する抗体フラグメントをコードするポリヌクレオチドは、抗体フラグメントをコードする次のようなポリヌクレオチドを、そのすべても含め、1つ、2つ、3つまたはそれ以上含むか、あるいはこれよりなる：配列番号111の軽鎖可変配列をコードするポリヌクレオチド配列番号311；配列番号112の軽鎖配列をコードするポリヌクレオチド配列番号312；配列番号113の重鎖可変配列をコードするポリヌクレオチド配列番号313；配列番号114の重鎖配列をコードするポリヌクレオチド配列番号314；配列番号111の軽鎖可変配列または配列番号112の軽鎖配列の相補性決定領域をコードするポリヌクレオチド（配列番号315、配列番号316および配列番号317）；および配列番号113の重鎖可変配列または配列番号114の重鎖配列の相補性決定領域をコードするポリヌクレオチド（配列番号318、配列番号319および配列番号320）。

20

30

【0554】

本発明の好適な実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、NGFに対する結合特異性を有するFab（抗原結合フラグメント）フラグメントをコードするポリヌクレオチドを含むか、あるいはこれよりなる。抗体Ab12に関して、完全長Ab12抗体をコードするポリヌクレオチドは、配列番号112の軽鎖配列をコードするポリヌクレオチド配列番号312および配列番号114の重鎖配列をコードするポリヌクレオチド配列番号314を含むか、あるいはこれよりなる。

【0555】

本発明の別の実施形態は、CHO、NSO、HEK-293などの哺乳動物細胞で、または真菌、昆虫、植物で、または酵母ピキア（*Pichia*）のような酵母細胞などの微生物系で発現させるために発現ベクター内に組み込んだ、上記ポリヌクレオチドを企図する。適当なピキア（*Pichia*）種としては、特に限定されないが、ピキア・パストリス（*Pichia pastoris*）が挙げられる。本明細書に記載の本発明の一実施形態（下記）では、適当な宿主内で完全長ポリヌクレオチドを発現させた後に、Ab12の酵素消化（例えば、パペイン）によりFabフラグメントを作製してもよい。本発明の別の実施形態では、CHO、NSOもしくはHEK293細胞などの哺乳動物細胞、真菌、昆虫、植物、動物、または酵母もしくは細菌細胞（例えば、二倍体ピキア属（*Pichia*）のような二倍体酵母）その他の酵母菌株などの微生物系でのAb12ポリヌクレオチドの発現によりAb12またはそのFabフラグメントのような抗NGF抗体を作製し

40

50

てもよい。適当なピキア (*P i c h i a*) 種としては、特に限定されないが、ピキア・パストリス (*P i c h i a p a s t o r i s*) が挙げられる。

【0556】

抗体Ab13

別の実施形態では、さらに本発明は、NGFとTrkAとの結合およびNGFとTrkAとの結合を阻害する抗NGF抗体およびそのフラグメントをコードするポリヌクレオチドに関する。さらに本発明は、NGFに対する結合特異性を有する抗体ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドに関する。本発明の一実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、配列番号121の可変軽鎖ポリペプチド配列をコードする次のようなポリヌクレオチド配列を含むか、あるいはこれよりなる：

10

【0557】

G C C G C C G T G C T G A C C C A G A C T C C A T C T C C C G T G T C T G C A
G C T G T G G G A G G C A C A G T C A G C A T C A G T T G C C A G T C C A G T C
A G A A T G T T T A T A A G A A C A A C T A C T T A T C C T G G T A T C A G C A
G A A A C C A G G G C A G C C T C C C A A G C T C C T G A T C T A C A A G G C A
T C C A C T C T G G C A T C T G G G G T C C C A T C G C G G T T C A A A G G C G
G T G G A T C T G G G A C A G A T T T C A C T C T C A C C A T C A G C G A C G T
G C A G T G T G A C G C T G C T G C C A C T T A C T A C T G T G C A G G C G G T
T A T A C C A G T A G T A G T G A T A A T G C T T T C G G C G G A G G G A C C G
A G G T G G T G G T C A A A C G T (配列番号321)。

20

【0558】

本発明の一実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、配列番号122の軽鎖ポリペプチド配列をコードする次のようなポリヌクレオチド配列を含むか、あるいはこれよりなる：

【0559】

G C C G C C G T G C T G A C C C A G A C T C C A T C T C C C G T G T C T G C A
G C T G T G G G A G G C A C A G T C A G C A T C A G T T G C C A G T C C A G T C
A G A A T G T T T A T A A G A A C A A C T A C T T A T C C T G G T A T C A G C A
G A A A C C A G G G C A G C C T C C C A A G C T C C T G A T C T A C A A G G C A
T C C A C T C T G G C A T C T G G G G T C C C A T C G C G G T T C A A A G G C G
G T G G A T C T G G G A C A G A T T T C A C T C T C A C C A T C A G C G A C G T
G C A G T G T G A C G C T G C T G C C A C T T A C T A C T G T G C A G G C G G T
T A T A C C A G T A G T A G T G A T A A T G C T T T C G G C G G A G G G A C C G
A G G T G G T G G T C A A A C G T A C G G T A G C G G C C C C A T C T G T C T T
C A T C T T C C C G C C A T C T G A T G A G C A G T T G A A A T C T G G A A C T
G C C T C T G T T G T G T G C C T G C T G A A T A A C T T C T A T C C C A G A G
A G G C C A A A G T A C A G T G G A A G G T G G A T A A C G C C C T C C A A T C
G G G T A A C T C C C A G G A G A G T G T C A C A G A G C A G G A C A G C A A G
G A C A G C A C C T A C A G C C T C A G C A G C A C C C T G A C G C T G A G C A
A A G C A G A C T A C G A G A A A C A C A A A G T C T A C G C C T G C G A A G T
C A C C C A T C A G G G C C T G A G C T C G C C C G T C A C A A A G A G C T T C
A A C A G G G G A G A G T G T T A (配列番号322)。

30

40

【0560】

本発明の別の実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、配列番号123の可変重鎖ポリペプチド配列をコードする次のようなポリヌクレオチド配列を含むか、あるいはこれよりなる：

【0561】

C A G T C G G T G G A G G C G T C C G G G G G T C G C C T G G T C A C G C C T
G G G A C A C C C C T G A C A C T C A C C T G C A C A G C C T C T G G A T T C T
C C C T C A G T A C C T A C T G G A T G A G C T G G G T C C G C C A G G C T C C

50

AGGGAAGGGGCTGGAATGGATCGGAGACATTTATTTTAGT
AATGAAGAAACAACCTACGCGAGCTGGGCGAAAGGCCGAT
TTACCATCTCCAAAACCTCGACCAACGGTGGATCTGAATGT
CATCAGTCCGACAACCGAGGACACGGCCACCTATTTCTGT
GCCAGAGGTTCCTCTGATGTTGATATTGGTATAGATATGT
GGGGCCCGGGCACCCCTCGTCAACGTCTCGAGC（配列番号323）。

【0562】

本発明の一実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、配列番号124の重鎖ポリペプチド配列をコードする次のようなポリヌクレオチド配列を含むか、あるいはこれよりなる：

CAGTCGGTGGAGGCGTCCGGGGGTCCGCTGGTCAACGCCCTG
GGACACCCCTGACACTCACCTGCACAGCCTCTGGATTCTC
CCTCAGTACCTACTGGATGAGCTGGGTCCGCCAGGCTCCA
GGGAAGGGGCTGGAATGGATCGGAGACATTTATTTTAGTA
ATGAAGAAACAACCTACGCGAGCTGGGCGAAAGGCCGATT
TACCATCTCCAAAACCTCGACCAACGGTGGATCTGAATGTC
ATCAGTCCGACAACCGAGGACACGGCCACCTATTTCTGTG
CCAGAGAGGTTCCTCTGATGTTGATATTGGTATAGATATGTG
GGGGCCCGGGCACCCCTCGTCAACGTCTCGAGCGCCTCCACC
AAGGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGA
GCACCTCTGGGGGGCACAGCGGGCCCTGGGGCTGCCCTGGTCAA
GGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGGAACTCA
GGCGCCCTGACCAAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCC
TACAGTCCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGAC
CGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCAACCCAGACCTACATCTGC
AACGTGAATCACAAAGCCCAAGCAACACCAAGGTGGACAAGA
GAGTTGAGCCCAAAATCTTGTGACAAAACTCACACATGCC
ACCGTGCCTCAGCACCTGAACCTCCTGGGGGGACCGTCAAGTC
TTCCTCTTCCCCCCCCAAAACCCAAAGGACACCCCTCATGATCT
CCCCGGACCCCTGAGGTCAACATGCGTGGTGGTGGACGTGAG
CCACGAAGACCCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGAC
GGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGG
AGCAGTACGCCAGCACGTACCGTGTGGTCAAGCGTCTCAC
CGTCTCTGCACCAAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAG
TGCAAGGTCTCCAACAAGCCCTCCCAAGCCCCCATCGAGA
AAACCATCTCCAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCAACA
GGTGTACACCCCTGCCCCCATCCCGGAGGAGATGACCAAG
AACCAAGGTCAAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATC
CCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCC
GGAGAACAACTACAAAGACCAACGCCCTCCCGTGTGGACTCC
GACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACA
AGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGT
GATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAAGAGC
CTCTCCCTGTCTCCGGGTAAATGA（配列番号324）。

【0563】

本発明のさらなる実施形態では、NGFに対する結合特異性を有する抗体フラグメントをコードするポリヌクレオチドは、配列番号121の軽鎖可変配列または配列番号122の軽鎖配列の相補性決定領域（CDRまたは超可変領域）をコードするポリヌクレオチドに対応する配列番号325、配列番号326および配列番号327のポリヌクレオチド配

10

20

30

40

50

列を1つ以上含むか、あるいはこれよりなる。

【0564】

本発明のさらなる実施形態では、NGFに対する結合特異性を有する抗体フラグメントをコードするポリヌクレオチドは、配列番号123の重鎖可変配列および配列番号124の重鎖配列の相補性決定領域(CDRまたは超可変領域)をコードするポリヌクレオチドに対応する配列番号328、配列番号329および配列番号330のポリヌクレオチド配列を1つ以上含むか、あるいはこれよりなる。

【0565】

また本発明は、本明細書に記載の抗体フラグメントをコードするポリヌクレオチド配列を1つ以上含むポリヌクレオチド配列も企図する。本発明の一実施形態では、NGFに対する結合特異性を有する抗体フラグメントをコードするポリヌクレオチドは、抗体フラグメントをコードする次のようなポリヌクレオチドを、そのすべても含め、1つ、2つ、3つまたはそれ以上含むか、あるいはこれよりなる：配列番号121の軽鎖可変配列をコードするポリヌクレオチド配列番号321；配列番号122の軽鎖配列をコードするポリヌクレオチド配列番号322；配列番号123の重鎖可変配列をコードするポリヌクレオチド配列番号323；配列番号124の重鎖配列をコードするポリヌクレオチド配列番号324；配列番号121の軽鎖可変配列または配列番号122の軽鎖配列の相補性決定領域をコードするポリヌクレオチド(配列番号325、配列番号326および配列番号327)；および配列番号123の重鎖可変配列または配列番号124の重鎖配列の相補性決定領域をコードするポリヌクレオチド(配列番号328、配列番号329および配列番号330)。

【0566】

本発明の好適な実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、NGFに対する結合特異性を有するFab(抗原結合フラグメント)フラグメントをコードするポリヌクレオチドを含むか、あるいはこれよりなる。抗体Ab13に関して、完全長Ab13抗体をコードするポリヌクレオチドは、配列番号122の軽鎖配列をコードするポリヌクレオチド配列番号322および配列番号124の重鎖配列をコードするポリヌクレオチド配列番号324を含むか、あるいはこれよりなる。

【0567】

本発明の別の実施形態は、CHO、NSO、HEK-293などの哺乳動物細胞で、または真菌、昆虫、植物で、または酵母ピキア(Pichia)のような酵母細胞などの微生物系で発現させるために発現ベクター内に組み込んだ、上記ポリヌクレオチドを企図する。適当なピキア(Pichia)種としては、特に限定されないが、ピキア・パストリス(Pichia pastoris)が挙げられる。本明細書に記載の本発明の一実施形態(下記)では、適当な宿主内で完全長ポリヌクレオチドを発現させた後に、Ab13の酵素消化(例えば、パパイン)によりFabフラグメントを作製してもよい。本発明の別の実施形態では、CHO、NSOもしくはHEK293細胞などの哺乳動物細胞、真菌、昆虫、植物、動物、または細菌細胞もしくは酵母細胞(例えば、二倍体ピキア属(Pichia)のような二倍体酵母)その他の酵母菌株などの微生物系でのAb13ポリヌクレオチドの発現により、Ab13またはそのFabフラグメントのような抗NGF抗体を作製してもよい。適当なピキア(Pichia)種としては、特に限定されないが、ピキア・パストリス(Pichia pastoris)が挙げられる。

【0568】

抗体Ab14

別の実施形態では、さらに本発明は、NGFとTrkAとの結合およびNGFとTrkAとの結合を阻害する抗NGF抗体およびそのフラグメントをコードするポリヌクレオチドに関する。さらに本発明は、NGFに対する結合特異性を有する抗体ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドに関する。本発明の一実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、配列番号131の可変軽鎖ポリペプチド配列をコードする次のようなポリヌクレオチド配列を含むか、あるいはこれよりなる

【0569】

GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCA
TCTGTAGGAGACAGAGTCAACCATCACTTGCCAGTCCAGTCA
AGAAATGTTTATAAGAACAACTACTTATCCTGGTATCAGCA
GAAACCAGGGAAAGTCCCTAAGCTCCTGATCTATAAGGCA
TCCACTCTGGGCATCTGGGGGTCCCATCTCGTTTTCAGTGGCA
GTGGATCTGGGACAGATTTCACCTCTCACCATCAGCAGCCT
GCAGCCTGAAGATGTTGCAACTTATTACTGTGCAGGCGGT
TATACCAGTAGTAGTGATAATGCTTTTCGGCGGAGGAACCA
AGGTGGAAATCAAAACGT（配列番号331）。 10

【0570】

本発明の一実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、配列番号132の軽鎖ポリペ
プチド配列をコードする次のようなポリヌクレオチド配列を含むか、あるいはこれよりな
る：

【0571】

GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCA
TCTGTAGGAGACAGAGTCAACCATCACTTGCCAGTCCAGTCA
AGAAATGTTTATAAGAACAACTACTTATCCTGGTATCAGCA
GAAACCAGGGAAAGTCCCTAAGCTCCTGATCTATAAGGCA
TCCACTCTGGGCATCTGGGGGTCCCATCTCGTTTTCAGTGGCA 20
GTGGATCTGGGACAGATTTCACCTCTCACCATCAGCAGCCT
GCAGCCTGAAGATGTTGCAACTTATTACTGTGCAGGCGGT
TATACCAGTAGTAGTGATAATGCTTTTCGGCGGAGGAACCA
AGGTGGAAATCAAAACGTACGGGTAGCGGCCCCCATCTGTCTT
CATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAACCT
GCCTCTGTGTGTGCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAG
AGGCCAAAGTACAGTGGAAAGGTGGATAACGCCCTCCAATC
GGGTAACTCCCAAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAG
GACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCCTGACGCTGAGCA
AAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCCTGCGAAGT 30
CACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCAACAAAGAGCTTC
AACAGGGGAGAGTGTTAG（配列番号332）。

【0572】

本発明の別の実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、配列番号133の可変重鎖
ポリペプチド配列をコードする次のようなポリヌクレオチド配列を含むか、あるいはこれ
よりなる：

【0573】

GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCCAG
CCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCGAGCCTCTGGAT
TCACCGTCAGTACCTACTGGATGAGCTGGGTCCGTCAAGGC 40
TCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCCGGAGACATTTACTTT
AGTAATGAAGAAACAAACTACGCCGAGCAGCGCGAAAGGCC
GATTCACCATCTCCAGAGACAAATTCCAAGAACACCCCTGTA
TCTTCAAATGAACAGCCTGAGAGCTGAGGACACTGCTGTG
TATTACTGTGCTAGAGGTTCCTCGATGTTGATATTGGTA
TAGATAATGTGGGGGCCAGGGACCCCTCGTCAACCGTCTCGAG
C（配列番号333）。

【0574】

本発明の一実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、配列番号134の重鎖ポリペ
プチド配列をコードする次のようなポリヌクレオチド配列を含むか、あるいはこれよりな 50

る：

G A G G T G C A G C T G G T G G A G T C T G G G G G A G G C T T G G T C C A G C
C T G G G G G G T C C C T G A G A C T C T C C T G T G C A G C C T C T G G A T T
C A C C G T C A G T A C C T A C T G G A T G A G C T G G G T C C G T C A G G C T
C C A G G G A A G G G G C T G G A G T G G G T C G G A G A C A T T T A C T T T A
G T A A T G A A G A A A C A A A C T A C G C G A G C A G C G C G A A A G G C C G
A T T C A C C A T C T C C A G A G A C A A T T C C A A G A A C A C C C T G T A T
C T T C A A A T G A A C A G C C T G A G A G C T G A G G A C A C T G C T G T G T
A T T A C T G T G C T A G A G G T T C T C C T G A T G T T G A T A T T G G T A T
A G A T A T G T G G G G C C C A G G G A C C C T C G T C A C C G T C T C G A G C 10
G C C T C C A C C A A G G G C C C A T C G G T C T T C C C C C T G G C A C C C T
C C T C C A A G A G C A C C T C T G G G G G C A C A G C G G C C C T G G G C T G
C C T G G T C A A G G A C T A C T T C C C C G A A C C G G T G A C G G T G T C G
T G G A A C T C A G G C G C C C T G A C C A G C G G C G T G C A C A C C T T C C
C G G C T G T C C T A C A G T C C T C A G G A C T C T A C T C C C T C A G C A G
C G T G G T G A C C G T G C C C T C C A G C A G C T T G G G C A C C C A G A C C
T A C A T C T G C A A C G T G A A T C A C A A G C C C A G C A A C A C C A A G G
T G G A C A A G A G A G T T G A G C C C A A A T C T T G T G A C A A A A C T C A
C A C A T G C C C A C C G T G C C C A G C A C C T G A A C T C C T G G G G G G A
C C G T C A G T C T T C C T C T T C C C C C C A A A A C C C A A G G A C A C C C 20
T C A T G A T C T C C C G G A C C C C T G A G G T C A C A T G C G T G G T G G T
G G A C G T G A G C C A C G A A G A C C C T G A G G T C A A G T T C A A C T G G
T A C G T G G A C G G C G T G G A G G T G C A T A A T G C C A A G A C A A A G C
C G C G G G A G G A G C A G T A C G C C A G C A C G T A C C G T G T G G T C A G
C G T C C T C A C C G T C C T G C A C C A G G A C T G G C T G A A T G G C A A G
G A G T A C A A G T G C A A G G T C T C C A A C A A A G C C C T C C C A G C C C
C C A T C G A G A A A A C C A T C T C C A A A G C C A A A G G G C A G C C C C G
A G A A C C A C A G G T G T A C A C C C T G C C C C C A T C C C G G G A G G A G
A T G A C C A A G A A C C A G G T C A G C C T G A C C T G C C T G G T C A A A G
G C T T C T A T C C C A G C G A C A T C G C C G T G G A G T G G G A G A G C A A 30
T G G G C A G C C G G A G A A C A A C T A C A A G A C C A C G C C T C C C G T G
C T G G A C T C C G A C G G C T C C T T C T T C C T C T A C A G C A A G C T C A
C C G T G G A C A A G A G C A G G T G G C A G C A G G G G A A C G T C T T C T C
A T G C T C C G T G A T G C A T G A G G C T C T G C A C A A C C A C T A C A C G
C A G A A G A G C C T C T C C C T G T C T C C G G G T A A A T G A (配列番号 3 3
4)。

【0575】

本発明のさらなる実施形態では、NGFに対する結合特異性を有する抗体フラグメントをコードするポリヌクレオチドは、配列番号131の軽鎖可変配列または配列番号132の軽鎖配列の相補性決定領域(CDRまたは超可変領域)をコードするポリヌクレオチド 40
に対応する配列番号335、配列番号336および配列番号337のポリヌクレオチド配列を1つ以上含むか、あるいはこれよりなる。

【0576】

本発明のさらなる実施形態では、NGFに対する結合特異性を有する抗体フラグメントをコードするポリヌクレオチドは、配列番号133の重鎖可変配列または配列番号134の重鎖配列の相補性決定領域(CDRまたは超可変領域)をコードするポリヌクレオチド
に対応する配列番号338、配列番号339および配列番号340のポリヌクレオチド配列を1つ以上含むか、あるいはこれよりなる。

【0577】

また本発明は、本明細書に記載の抗体フラグメントをコードするポリヌクレオチド配列 50

を1つ以上含むポリヌクレオチド配列も企図する。本発明の一実施形態では、NGFに対する結合特異性を有する抗体フラグメントをコードするポリヌクレオチドは、抗体フラグメントをコードする次のようなポリヌクレオチドを、そのすべても含め、1つ、2つ、3つまたはそれ以上含むか、あるいはこれよりなる：配列番号131の軽鎖可変配列をコードするポリヌクレオチド配列番号331；配列番号132の軽鎖配列をコードするポリヌクレオチド配列番号332；配列番号133の重鎖可変配列をコードするポリヌクレオチド配列番号333；配列番号134の重鎖配列をコードするポリヌクレオチド配列番号334；配列番号131の軽鎖可変配列または配列番号132の軽鎖配列の相補性決定領域をコードするポリヌクレオチド（配列番号335、配列番号336および配列番号337）；および配列番号133の重鎖可変配列または配列番号134の重鎖配列の相補性決定領域をコードするポリヌクレオチド（配列番号338、配列番号339および配列番号340）。

10

【0578】

本発明の好適な実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、NGFに対する結合特異性を有するFab（抗原結合フラグメント）フラグメントをコードするポリヌクレオチドを含むか、あるいはこれよりなる。抗体Ab14に関して、完全長Ab14抗体をコードするポリヌクレオチドは、配列番号132の軽鎖配列をコードするポリヌクレオチド配列番号332および配列番号134の重鎖配列をコードするポリヌクレオチド配列番号334を含むか、あるいはこれよりなる。

【0579】

20

本発明の別の実施形態は、CHO、NSO、HEK-293などの哺乳動物細胞で、または真菌、昆虫、植物、動物で、または細菌細胞もしくは酵母ピキア（*Pichia*）のような酵母細胞などの微生物系で発現させるために発現ベクター内に組み込んだ、上記ポリヌクレオチドを企図する。適当なピキア（*Pichia*）種としては、特に限定されないが、ピキア・パストリス（*Pichia pastoris*）が挙げられる。本明細書に記載の本発明の一実施形態（下記）では、適当な宿主内で完全長ポリヌクレオチドを発現させた後に、Ab14の酵素消化（例えば、パパイン）によりFabフラグメントを作製してもよい。本発明の別の実施形態では、CHO、NSOもしくはHEK293細胞などの哺乳動物細胞、真菌、昆虫、植物、または酵母細胞（例えば、二倍体ピキア属（*Pichia*）のような二倍体酵母）その他の酵母菌株などの微生物系でのAb14ポリヌクレオチドの発現により、Ab14またはそのFabフラグメントのような抗NGF抗体を作製してもよい。適当なピキア（*Pichia*）種としては、特に限定されないが、ピキア・パストリス（*Pichia pastoris*）が挙げられる。

30

【0580】

抗体Ab15

別の実施形態では、さらに本発明は、NGFとTrkAとの結合を阻害し、かつNGFとTrkAとの結合に大幅な影響を及ぼさない抗NGF抗体およびそのフラグメントをコードするポリヌクレオチドに関する。さらに本発明は、NGFに対する結合特異性を有する抗体ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドに関する。本発明の一実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、配列番号141の可変軽鎖ポリペプチド配列をコードする次のようなポリヌクレオチド配列を含むか、あるいはこれよりなる：

40

【0581】

G C A G C C G T G C T G A C C C A G A C A C C A T C G C C C G T G T C T G C A
G C T G T G G G A G A C A C A G T C A C C A T C A A G T G C C A G T C C A G T C
A G A G T G T T T A T A A G A A C A A C T A C T T A T C C T G G T A T C A G C A
G A A A C C A G G G C A G C C T C C C A A G C T C C T G A T C T A T G A T G C A
T C C A A T C T G C C A T C T G G G G T C C C A T C A C G G T T C A G C G G C A
G T G G A T C T G G G A C A C A G T T C A C T C T C A C C A T C A G C G G C G T
G C A G T G T G A C G A T G C T G C C A C T T A C T A C T G T C T A G G C G A T
T A T G A T G A T G A T A C T G A T A A T G G T T T C G G C G G A G G G A C C G

50

AGGTGGTGGTCAAACGT（配列番号341）。

【0582】

本発明の一実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、配列番号142の軽鎖ポリペプチド配列をコードする次のようなポリヌクレオチド配列を含むか、あるいはこれよりなる：

GCAGCCGTGCTGACCCAGACACCATCGCCCGTGTCTGCA
GCTGTGGGAGACACAGTCAACCATCAAGTGCCAGTCCAGTCA
AGAGTGTTTATAAGAACAACTACTTATCCTGGTATCAGCA
GAAACCAGGGCAGCCTCCCAAGCTCCTGATCTATGATGCA
TCCAATCTGCCATCTGGGGTCCCATCACGGTTTCAGCGGCA
GTGGATCTGGGACACAGTTCACTCTCACCATCAGCGGCGT
GCAGTGTGACGATGCTGCCACTTACTACTGTCTAGGCGAT
TATGATGATGATACTGATAATGGTTTTCGGCGGAGGGACCG
AGGTGGTGGTCAAACGTACGGTAGCGGCCCCATCTGTCTT
CATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAACCT
GCCTCTGTGTGTGCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAG
AGGCCAAAGTACAGTGGAAAGGTGGATAACGCCCTCCAATC
GGGTAACTCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAG
GACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCCTGACGCTGAGCA
AAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCCTGCGAAGT
CACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCA
AACAGGGGAGAGTGTTAG（配列番号342）。

【0583】

本発明の別の実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、配列番号143の可変重鎖ポリペプチド配列をコードする次のようなポリヌクレオチド配列を含むか、あるいはこれよりなる：

【0584】

CAGTCGGTGGAGGAGTCCGGGGGTTCGCCCTGGTCAACGCCCT
GGGACACCCCTGACACTCACCTGCACAGTCTCTGGAATCG
ACCTCAGTAGCTATGCAATGATCTGGGTCCGCCAGGCTCC
AGGGAAGGGGCTGGAATACATCGGAATCATTTGGAGTGGT
GGCACCTACTACGCGACCTGGGCGAAAGGCCCGATTTCACCA
TCTCCAACAACTCGACCAACGGTGGATCTGCAAAATCACCAAG
TCCGACAACCGAGGACGCGGCCACCTATTTCTGTGCGCGCA
GGTGGTGGTAGTATTTATGATGTTTGGGGGCCCGGGCACCC
TGGTCAACCGTCTCGAGC（配列番号343）。

【0585】

本発明の一実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、配列番号144の重鎖ポリペプチド配列をコードする次のようなポリヌクレオチド配列を含むか、あるいはこれよりなる：

CAGTCGGTGGAGGAGTCCGGGGGTTCGCCCTGGTCAACGCCCTG
GGACACCCCTGACACTCACCTGCACAGTCTCTGGAATCGA
CCTCAGTAGCTATGCAATGATCTGGGTCCGCCAGGCTCCA
GGGAAGGGGCTGGAATACATCGGAATCATTTGGAGTGGTG
GCACCTACTACGCGACCTGGGCGAAAGGCCCGATTTCACCAAT
CTCCAACAACTCGACCAACGGTGGATCTGCAAAATCACCAAGT
CCGACAACCGAGGACGCGGCCACCTATTTCTGTGCGCGCAG
GTGGTGGTAGTATTTATGATGTTTGGGGGCCCGGGCACCCCT
GGTCAACCGTCTCGAGCGCCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCT
TTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCA

CAGCGGCCCTGGGCTGCCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGA
ACCGGTGACGGTGTCTGGAACTCAGGCGCCCTGACCAAGC
GGCGTGCACACCTTCCCCGGCTGTCTTACAGTCTTCAGGAC
TCTACTCCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAG
CTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAAG
CCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAAAT
CTTGTGACAAAACCTCACACATGCCCAACCGTGCCCAAGCACCC
TGAACTCCTGGGGGGGACCGTCAAGTCTTCTCTTCCCCCCA
AAACCCCAAGGACACCCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGG
TCACATGCGTGGTGGTGGACGTTGAGCCACGAAGACCCCTGA
GGTCAAGTTCAACTGGTACGTTGGACGGCGTTGGAGGTGCAT
AATGCCAAGACAAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACGCCAGCA
CGTACCGTGTGGTCAAGCGTCTTCAACCGTCTTGCAACCAGGA
CTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAAC
AAAGCCCTCCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAG
CCAAAGGGCAGCCCCGAGAAACCAACAGGTGTACACCCCTGCC
CCCATCCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAAGCCTG
ACCTTGCTTGGTCAAAGGCTTCTATCCCCAGCGACATCGCCG
TGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAAGCCGGAGAACAACTACAA
GACCAACGCCCTCCCGTGTCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTC
CTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGC
AGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGGCTCT
GCACAAACCACTACACGCAGAAAGAGCCCTCTCCCTGTCTCCG
GGTAAATGA (配列番号344)。

【0586】

本発明のさらなる実施形態では、NGFに対する結合特異性を有する抗体フラグメントをコードするポリヌクレオチドは、配列番号141の軽鎖可変配列または配列番号142の軽鎖配列の相補性決定領域(CDRまたは超可変領域)をコードするポリヌクレオチドに対応する配列番号345、配列番号346および配列番号347のポリヌクレオチド配列を1つ以上含むか、あるいはこれよりなる。

【0587】

本発明のさらなる実施形態では、NGFに対する結合特異性を有する抗体フラグメントをコードするポリヌクレオチドは、配列番号143の重鎖可変配列または配列番号144の重鎖配列の相補性決定領域(CDRまたは超可変領域)をコードするポリヌクレオチドに対応する配列番号348、配列番号349および配列番号350のポリヌクレオチド配列を1つ以上含むか、あるいはこれよりなる。

【0588】

また本発明は、本明細書に記載の抗体フラグメントをコードするポリヌクレオチド配列を1つ以上含むポリヌクレオチド配列も企図する。本発明の一実施形態では、NGFに対する結合特異性を有する抗体フラグメントをコードするポリヌクレオチドは、抗体フラグメントをコードする次のようなポリヌクレオチドを、そのすべても含め、1つ、2つ、3つまたはそれ以上含むか、あるいはこれよりなる：配列番号141の軽鎖可変配列をコードするポリヌクレオチド配列番号341；配列番号142の軽鎖配列をコードするポリヌクレオチド配列番号342；配列番号143の重鎖可変配列をコードするポリヌクレオチド配列番号343；配列番号144の重鎖配列をコードするポリヌクレオチド配列番号344；配列番号141の軽鎖可変配列または配列番号142の軽鎖配列の相補性決定領域をコードするポリヌクレオチド(配列番号345、配列番号346および配列番号347)；および配列番号143の重鎖可変配列または配列番号144の重鎖配列の相補性決定領域をコードするポリヌクレオチド(配列番号348、配列番号349および配列番号350)。

【0589】

本発明の好適な実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、NGFに対する結合特異性を有するFab（抗原結合フラグメント）フラグメントをコードするポリヌクレオチドを含むか、あるいはこれよりなる。抗体Ab15に関して、完全長Ab15抗体をコードするポリヌクレオチドは、配列番号142の軽鎖配列をコードするポリヌクレオチド配列番号342および配列番号144の重鎖配列をコードするポリヌクレオチド配列番号344を含むか、あるいはこれよりなる。

【0590】

本発明の別の実施形態は、CHO、NSO、HEK-293などの哺乳動物細胞で、または真菌、昆虫、植物で、または酵母ピキア（*Pichia*）のような酵母細胞などの微生物系で発現させるために発現ベクター内に組み込んだ、上記ポリヌクレオチドを企図する。適当なピキア（*Pichia*）種としては、特に限定されないが、ピキア・パストリス（*Pichia pastoris*）が挙げられる。本明細書に記載の本発明の一実施形態（下記）では、適当な宿主内で完全長ポリヌクレオチドを発現させた後に、Ab15の酵素消化（例えば、パパイン）によりFabフラグメントを作製してもよい。本発明の別の実施形態では、CHO、NSOもしくはHEK293細胞などの哺乳動物細胞、真菌、昆虫、植物、動物、または細菌細胞もしくは酵母細胞（例えば、二倍体ピキア属（*Pichia*）のような二倍体酵母）その他の酵母菌株などの微生物系でのAb15ポリヌクレオチドの発現により、Ab15またはそのFabフラグメントのような抗NGF抗体を作製してもよい。適当なピキア（*Pichia*）種としては、特に限定されないが、ピキア・パストリス（*Pichia pastoris*）が挙げられる。

【0591】

抗体Ab16

別の実施形態では、さらに本発明は、NGFとTrkAとの結合を阻害し、かつNGFとTrkAとの結合に大幅な影響を及ぼさない抗NGF抗体およびそのフラグメントをコードするポリヌクレオチドに関する。さらに本発明は、NGFに対する結合特異性を有する抗体ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドに関する。本発明の一実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、配列番号151の可変軽鎖ポリペプチド配列をコードする次のようなポリヌクレオチド配列を含むか、あるいはこれよりなる：

【0592】

G C C C T G G T G A T G A C C C A G A C T C C A T C C T C C A C G T C T G A A
C C A G T G G G A G G C A C A G T C A C C A T C A A T T G C C A G G C T A G T C
A G A A T A T T G G T A A C G A C C T A T C C T G G T A T C A G C A G A A A C C
A G G G C A G C C T C C C G A G C T C C T A A T C T A T T C T A C A T C C A A A
C T G G C A A C T G G G G T C C C A A A G C G G T T C A G T G G C A G C A G A T
C T G G G A C A C A G T T C A C T C T C A C C A T C A G C G A C C T G G A G T G
T G A C G A T G C T G C C A C T T A C T A C T G T C T A G G T G T T T A T A G T
T A T A T T A G T G A T G A T G G T A A T G C T T T C G G C G G A G G G A C C G
A G G T G G T G G T C A A A C G T（配列番号351）。

【0593】

本発明の一実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、配列番号152の軽鎖ポリペプチド配列をコードする次のようなポリヌクレオチド配列を含むか、あるいはこれよりなる：

【0594】

G C C C T G G T G A T G A C C C A G A C T C C A T C C T C C A C G T C T G A A
C C A G T G G G A G G C A C A G T C A C C A T C A A T T G C C A G G C T A G T C
A G A A T A T T G G T A A C G A C C T A T C C T G G T A T C A G C A G A A A C C
A G G G C A G C C T C C C G A G C T C C T A A T C T A T T C T A C A T C C A A A
C T G G C A A C T G G G G T C C C A A A G C G G T T C A G T G G C A G C A G A T
C T G G G A C A C A G T T C A C T C T C A C C A T C A G C G A C C T G G A G T G

TGACGATGCTGCCACTTACTACTGTCTAGGTGTTTATAGT
TATATTAGTGATGATGGTAATGCTTTTCGGCGGAGGGACCG
AGGTGGTGGTCAAACGTACGGTAGCGGCCCCATCTGTCTT
CATCTTCCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAAC
TGCCTCTGTGTGTGTGCTGCTGAATAAATCTATCCCAGAG
AGGCCCAAAGTACAGTGGAAAGGTGGATAACGCCCTCCAATC
GGGTAACTCCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAG
GACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCCTGACGCTGAGCA
AAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCCTGCGAAGT
CACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCCGTACAAAGAGCTTC
AACAGGGGAGAGTGTTAG (配列番号352)。

10

【0595】

本発明の別の実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、配列番号153の可変重鎖ポリペプチド配列をコードする次のようなポリヌクレオチド配列を含むか、あるいはこれよりなる：

【0596】

CAGTTCGGTGGAGGAGTTTCGGGGGTCGCCCTGGTCAACGCCCT
GGGACACCCCTGACACTCACCTGCAACCGTCTCTGGATTCTT
CCCTCAATAAATACTATGCAATGACCTGGGTCCGCCAGGCTCC
AGGGAAAGGGGCTGGAGTGGATCGGGATCATTTGGTAGTATT
GGTACCACATACTACGCGAGCTGGGCGAAAGGCCCGATTCTT
TCATCTCCAAAACCTCGACCACTGTGGATCTGAAAATCAT
TAGTCCGACAAACCGAGGACACGGGCCACCTATTTCTGTGCC
AGAGATGCTGGCGTTACTGTGTGATGGTTATGGCTACTACT
TTAACATCTGGGGGCCAGGCCACCCCTCGTCAACCGTCTCGAG
C (配列番号353)。

20

【0597】

本発明の一実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、配列番号154の重鎖ポリペプチド配列をコードする次のようなポリヌクレオチド配列を含むか、あるいはこれよりなる：

30

【0598】

CAGTTCGGTGGAGGAGTTTCGGGGGTCGCCCTGGTCAACGCCCT
GGGACACCCCTGACACTCACCTGCAACCGTCTCTGGATTCTT
CCCTCAATAAATACTATGCAATGACCTGGGTCCGCCAGGCTCC
AGGGAAAGGGGCTGGAGTGGATCGGGATCATTTGGTAGTATT
GGTACCACATACTACGCGAGCTGGGCGAAAGGCCCGATTCTT
TCATCTCCAAAACCTCGACCACTGTGGATCTGAAAATCAT
TAGTCCGACAAACCGAGGACACGGGCCACCTATTTCTGTGCC
AGAGATGCTGGCGTTACTGTGTGATGGTTATGGCTACTACT
TTAACATCTGGGGGCCAGGCCACCCCTCGTCAACCGTCTCGAG
CGCCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGGCACCC
TCCTCCAAAGAGCACCTCTGGGGGGCACAGCGGCCCTGGGGCT
GCCTGGTCAAGGACTACTTCCCGGAACCGGTGACGGTGTCT
GTGGAACCTCAGGCGCCCTGACCAAGCGGCGTGACACACCTTC
CCGGCTGTCTTACAGTCTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCA
GCGTGGTGACCGTGCCTTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGAC
CTACATCTGCAACGTGAATCACAAAGCCAGCAACACCAAG
GTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTC
ACACATGCCCAACCGTGCCCAAGCACCTGAATCTCTGGGGGG
ACCGTCAAGTCTTCTCTTCCCCCAAAACCCAAAGGACACC

40

50

CTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGG
TGGACGTGAGCCACGAAGACCCCTGAGGTCAGTTCAACTG
GTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAG
CCGCGGGGAGGAGCAGTACGCCAGCACGTACCGTGTGGTCA
GCGTCTCTCACCGTCTTGCAACCAGGACTGGCTGAATGGCAA
GGAGTACAAAGTGCAAGGTCTCCAACAAGAGCCCTCCAGCC
CCCATCGAGAAACCATCTCCAAGCCAAAGGGCAGCCCC
GAGAACCCACAGGTGTACACCCCTGCCCCCATCCCGGGAGGA
GATGACCAAGAACCAAGGTCAAGCCTGACCTGCCCTGGTCAA
GGCTTCTATCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCA
ATGGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCAAGCCTCCCGT
GCTGGACTCCGACGGCTCTTCTTCTCTACAGCAAGCTC
ACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCT
CATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACAC
GCAGAAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAATGA（配列番号3
54）。

10

【0599】

本発明のさらなる実施形態では、NGFに対する結合特異性を有する抗体フラグメントをコードするポリヌクレオチドは、配列番号151の軽鎖可変配列または配列番号152の軽鎖配列の相補性決定領域（CDRまたは超可変領域）をコードするポリヌクレオチドに対応する配列番号355、配列番号356および配列番号357のポリヌクレオチド配列を1つ以上含むか、あるいはこれよりなる。

20

【0600】

本発明のさらなる実施形態では、NGFに対する結合特異性を有する抗体フラグメントをコードするポリヌクレオチドは、配列番号153の重鎖可変配列または配列番号154の重鎖配列の相補性決定領域（CDRまたは超可変領域）をコードするポリヌクレオチドに対応する配列番号358、配列番号359および配列番号360のポリヌクレオチド配列を1つ以上含むか、あるいはこれよりなる。

【0601】

また本発明は、本明細書に記載の抗体フラグメントをコードするポリヌクレオチド配列を1つ以上含むポリヌクレオチド配列も企図する。本発明の一実施形態では、NGFに対する結合特異性を有する抗体フラグメントをコードするポリヌクレオチドは、抗体フラグメントをコードする次のようなポリヌクレオチドを、そのすべても含め、1つ、2つ、3つまたはそれ以上含むか、あるいはこれよりなる：配列番号151の軽鎖可変配列をコードするポリヌクレオチド配列番号351；配列番号152の軽鎖配列をコードするポリヌクレオチド配列番号352；配列番号153の重鎖可変配列をコードするポリヌクレオチド配列番号353；配列番号154の重鎖配列をコードするポリヌクレオチド配列番号354；配列番号151の軽鎖可変配列または配列番号152の軽鎖配列の相補性決定領域をコードするポリヌクレオチド（配列番号355、配列番号356および配列番号357）；および配列番号153の重鎖可変配列または配列番号154の重鎖配列の相補性決定領域をコードするポリヌクレオチド（配列番号358、配列番号359および配列番号360）。

30

40

【0602】

本発明の好適な実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、NGFに対する結合特異性を有するFab（抗原結合フラグメント）フラグメントをコードするポリヌクレオチドを含むか、あるいはこれよりなる。抗体Ab16に関して、完全長Ab16抗体をコードするポリヌクレオチドは、配列番号152の軽鎖配列をコードするポリヌクレオチド配列番号352および配列番号154の重鎖配列をコードするポリヌクレオチド配列番号354を含むか、あるいはこれよりなる。

【0603】

50

本発明の別の実施形態は、CHO、NSO、HEK-293などの哺乳動物細胞で、または真菌、昆虫、植物で、または酵母ピキア（*Pichia*）のような酵母細胞などの微生物系で発現させるために発現ベクター内に組み込んだ、上記ポリヌクレオチドを企図する。適当なピキア（*Pichia*）種としては、特に限定されないが、ピキア・パストリス（*Pichia pastoris*）が挙げられる。本明細書に記載の本発明の一実施形態（下記）では、適当な宿主内で完全長ポリヌクレオチドを発現させた後に、Ab16の酵素消化（例えば、パバイン）によりFabフラグメントを作製してもよい。本発明の別の実施形態では、CHO、NSOもしくはHEK293細胞などの哺乳動物細胞、真菌、昆虫、植物、動物、または細菌細胞もしくは酵母細胞（例えば、二倍体ピキア属（*Pichia*）のような二倍体酵母）その他の酵母菌株などの微生物系でのAb16ポリヌクレオチドの発現により、Ab16またはそのFabフラグメントのような抗NGF抗体を作製してもよい。適当なピキア（*Pichia*）種としては、特に限定されないが、ピキア・パストリス（*Pichia pastoris*）が挙げられる。

10

【0604】

抗体Ab17

別の実施形態では、さらに本発明は、NGFとTrkAとの結合およびNGFとTrkAとの結合を阻害する抗NGF抗体およびそのフラグメントをコードするポリヌクレオチドに関する。さらに本発明は、NGFに対する結合特異性を有する抗体ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドに関する。本発明の一実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、配列番号161の可変軽鎖ポリペプチド配列をコードする次のようなポリヌクレオチド配列を含むか、あるいはこれよりなる：

20

【0605】

GCCATCGAAATGACCCAGACTCCATTCTCCGTGTCTGCA
GCTGTGGGAGGCACAGTCAACATCAAGTGCCAGGCCAGTCA
AGACCAATTAGCAACTACTTAGCCTGGTATCAGCAGAAACC
AGGGCAGCCTCCCAAGCTCCTGATCTATGGTGCATCCAAT
CTGGAATCTGGGGTCCCATCGCGGTTCAAAGGCAGTGGAT
CTGGGACACAGTTTCACTCTCACCAATCAGCGACCTGGAGTG
TGACGATGCTGCCACTTACTACTGTCAACAGGGTTATACT
ATCAGTAATGTTGATAACAATGTTTTTCGGCGGAGGGACCG
AGGTGGTGGTCAAACGT（配列番号361）。

30

【0606】

本発明の一実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、配列番号162の軽鎖ポリペプチド配列をコードする次のようなポリヌクレオチド配列を含むか、あるいはこれよりなる：

【0607】

GCCATCGAAATGACCCAGACTCCATTCTCCGTGTCTGCA
GCTGTGGGAGGCACAGTCAACATCAAGTGCCAGGCCAGTCA
AGACCAATTAGCAACTACTTAGCCTGGTATCAGCAGAAACC
AGGGCAGCCTCCCAAGCTCCTGATCTATGGTGCATCCAAT
CTGGAATCTGGGGTCCCATCGCGGTTCAAAGGCAGTGGAT
CTGGGACACAGTTTCACTCTCACCAATCAGCGACCTGGAGTG
TGACGATGCTGCCACTTACTACTGTCAACAGGGTTATACT
ATCAGTAATGTTGATAACAATGTTTTTCGGCGGAGGGACCG
AGGTGGTGGTCAAACGTACGGTAGCGGCCCCATCTGTCTT
CATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGGAAC
GCCTCTGTGTGTGCTGCTGAATAAATTCTATCCAGAG
AGGCCAAAGTACAGTGGAAAGGTGGATAACGCCCTCCAATC
GGGTAACTCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAG
GACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCCTGACGCTGAGCA

40

50

AAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCCTGCGAAGT
CACCCATCAGGGGCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTTC
AACAGGGGAGAGTGT TAG (配列番号362)。

【0608】

本発明の別の実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、配列番号163の可変重鎖
ポリペプチド配列をコードする次のようなポリヌクレオチド配列を含むか、あるいはこれ
よりなる：

【0609】

CAGTCGCTGGAGGAGTCCGGGGGGTCCGCTGGTCAACGCCCT
GGGGGATCCCTGACACTCACCTGCGCAGCCTCTGGATTCTT
CCCTCACTGGCTACAACCTTGGTCTGGGTCCGCCAGGCTCC
AGGGAAGGGGGCTGGAGTGGATCGGATTCAATTAGTTATGGT
GATACCACATACTACGCGAGCTGGGGCGAAAGGCCCGATTCA
CCATCTTCCAAAACCTCGACCAACGGTGACTCTGACGATCAC
CGATCTTGCAACCTTTCAGACACGGGGCACCTATTTCTGTGCC
AGAGAGACTGCTAATACTTATGATTATGGCATCTGGGGGCC
CAGGCACCCCTCGTCAACCGTCTTCGAGC (配列番号363)。

10

【0610】

本発明の一実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、配列番号164の重鎖ポリペ
プチド配列をコードする次のようなポリヌクレオチド配列を含むか、あるいはこれよりな
る：

20

CAGTCGCTGGAGGAGTCCGGGGGGTCCGCTGGTCAACGCCCTG
GGGGGATCCCTGACACTCACCTGCGCAGCCTCTGGATTCTTC
CCTCACTGGCTACAACCTTGGTCTGGGTCCGCCAGGCTCCA
GGGAAGGGGGCTGGAGTGGATCGGATTCAATTAGTTATGGTGT
ATACCACATACTACGCGAGCTGGGGCGAAAGGCCCGATTCA
CATCTTCCAAAACCTCGACCAACGGTGACTCTGACGATCAC
GATCTTGCAACCTTTCAGACACGGGGCACCTATTTCTGTGCC
GAGAGACTGCTAATACTTATGATTATGGCATCTGGGGGGCC
AGGCACCCCTCGTCAACCGTCTTCGAGCGCCTCCACCAAGGGC
CCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCT
CTGGGGGGCACAGCGGGCCCTGGGGCTGCCCTGGTCAAGGACTA
CTTCCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGGAACCTCAGGCGCC
CTGACCAAGCGGGCTGCACACCTTCCCCGGCTGTCTTACAGT
CCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGGCC
CTCCAGCAGCTTGGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTG
AATCACAAAGCCCAAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTG
AGCCCAAAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCCAACCGTG
CCCAGCACCTGAACCTCCTGGGGGGGACCGTCAGTCTTCTCTC
TTCCCCCCAAAACCCAAAGGACACCCCTCATGATCTCCCCGGA
CCCCCTGAGGTCAACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGA
AGACCCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGGTG
GAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGT
ACGCCAGCACGTACCGTGTGGTCAAGCGTCTTCAACCGTCTT
GCACCAAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAG
GTCTTCCAACAAAGCCCTCCCAAGCCCCCATCGAGAAAACCA
TCTTCCAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCAACAGGTGTA
CACCCCTGCCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCA
GTCAGCCTGACCTGCCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAAGCG
ACATCGCCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCGAGCCGGAGAA

30

40

50

CAACTACAAGACCACGCCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGC
TCCTTCTTCTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCA
GGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCA
TGAGGCTCTTGCAACAACCACTACACGCAGAAAGAGCCCTCTCC
CTGTCTCTCCGGGTAAATGA（配列番号364）。

【0611】

本発明のさらなる実施形態では、NGFに対する結合特異性を有する抗体フラグメントをコードするポリヌクレオチドは、配列番号161の軽鎖可変配列または配列番号162の軽鎖配列の相補性決定領域（CDRまたは超可変領域）をコードするポリヌクレオチドに対応する配列番号365、配列番号366および配列番号367のポリヌクレオチド配列を1つ以上含むか、あるいはこれよりなる。

10

【0612】

本発明のさらなる実施形態では、NGFに対する結合特異性を有する抗体フラグメントをコードするポリヌクレオチドは、配列番号163の重鎖可変配列または配列番号164の重鎖配列の相補性決定領域（CDRまたは超可変領域）をコードするポリヌクレオチドに対応する配列番号368、配列番号369および配列番号370のポリヌクレオチド配列を1つ以上含むか、あるいはこれよりなる。

【0613】

また本発明は、本明細書に記載の抗体フラグメントをコードするポリヌクレオチド配列を1つ以上含むポリヌクレオチド配列も企図する。本発明の一実施形態では、NGFに対する結合特異性を有する抗体フラグメントをコードするポリヌクレオチドは、抗体フラグメントをコードする次のようなポリヌクレオチドを、そのすべても含め、1つ、2つ、3つまたはそれ以上含むか、あるいはこれよりなる：配列番号161の軽鎖可変配列をコードするポリヌクレオチド配列番号361；配列番号162の軽鎖配列をコードするポリヌクレオチド配列番号362；配列番号163の重鎖可変配列をコードするポリヌクレオチド配列番号363；配列番号164の重鎖配列をコードするポリヌクレオチド配列番号364；配列番号161の軽鎖可変配列または配列番号162の軽鎖配列の相補性決定領域をコードするポリヌクレオチド（配列番号365、配列番号366および配列番号367）；および配列番号163の重鎖可変配列または配列番号164の重鎖配列の相補性決定領域をコードするポリヌクレオチド（配列番号368、配列番号369および配列番号370）。

20

30

【0614】

本発明の好適な実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、NGFに対する結合特異性を有するFab（抗原結合フラグメント）フラグメントをコードするポリヌクレオチドを含むか、あるいはこれよりなる。抗体Ab17に関して、完全長Ab17抗体をコードするポリヌクレオチドは、配列番号162の軽鎖配列をコードするポリヌクレオチド配列番号362および配列番号164の重鎖配列をコードするポリヌクレオチド配列番号364を含むか、あるいはこれよりなる。

【0615】

本発明の別の実施形態は、CHO、NSO、HEK-293などの哺乳動物細胞で、または真菌、昆虫、植物、動物で、または細菌細胞もしくは酵母ピキア（*Pichia*）のような酵母細胞などの微生物系で発現させるために発現ベクター内に組み込んだ、上記ポリヌクレオチドを企図する。適当なピキア（*Pichia*）種としては、特に限定されないが、ピキア・パストリス（*Pichia pastoris*）が挙げられる。本明細書に記載の本発明の一実施形態（下記）では、適当な宿主内で完全長ポリヌクレオチドを発現させた後に、Ab17の酵素消化（例えば、パパイン）によりFabフラグメントを製してもよい。本発明の別の実施形態では、CHO、NSOもしくはHEK293細胞などの哺乳動物細胞、真菌、昆虫、植物、または酵母細胞（例えば、二倍体ピキア属（*Pichia*）のような二倍体酵母）その他の酵母菌株などの微生物系でのAb17ポリヌクレオチドの発現により、Ab17またはそのFabフラグメントのような抗NGF抗体を

40

50

作製してもよい。適当なピキア (*P i c h i a*) 種としては、特に限定されないが、ピキア・パストリス (*P i c h i a p a s t o r i s*) が挙げられる。

【0616】

抗体Ab18

別の実施形態では、さらに本発明は、NGFとTrkAとの結合およびNGFとTrkAとの結合を阻害する抗NGF抗体およびそのフラグメントをコードするポリヌクレオチドに関する。さらに本発明は、NGFに対する結合特異性を有する抗体ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドに関する。本発明の一実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、配列番号171の可変軽鎖ポリペプチド配列をコードする次のようなポリヌクレオチド配列を含むか、あるいはこれよりなる：

10

【0617】

G A C A T C C A G A T G A C C C A G T C T C C T T C C A C C C T G T C T G C A
T C T G T A G G A G A C A G A G T C A C C A T C A C T T G T C A G G C T A G T C
A G A C C A T T A G C A A C T A C T T A G C C T G G T A T C A G C A G A A A C C
A G G A A A A G C C C C T A A G C T C C T G A T C T A T G G T G C A T C C A A T
C T G G A A T C T G G A G T C C C A T C A A G G T T C A G C G G C A G T G G A T
C T G G A A C A G A A T T C A C T C T C A C C A T C A G C A G C C T G C A G C C
T G A T G A T T T T G C A A C T T A C T A C T G T C A A C A G G G T T A T A C T
A T C A G T A A T G T T G A T A A C A A T G T T T T C G G C G G A G G A A C C A
A G G T G G A A A T C A A A C G T (配列番号371)。

20

【0618】

本発明の一実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、配列番号172の軽鎖ポリペプチド配列をコードする次のようなポリヌクレオチド配列を含むか、あるいはこれよりなる：

【0619】

G A C A T C C A G A T G A C C C A G T C T C C T T C C A C C C T G T C T G C A
T C T G T A G G A G A C A G A G T C A C C A T C A C T T G T C A G G C T A G T C
A G A C C A T T A G C A A C T A C T T A G C C T G G T A T C A G C A G A A A C C
A G G A A A A G C C C C T A A G C T C C T G A T C T A T G G T G C A T C C A A T
C T G G A A T C T G G A G T C C C A T C A A G G T T C A G C G G C A G T G G A T
C T G G A A C A G A A T T C A C T C T C A C C A T C A G C A G C C T G C A G C C
T G A T G A T T T T G C A A C T T A C T A C T G T C A A C A G G G T T A T A C T
A T C A G T A A T G T T G A T A A C A A T G T T T T C G G C G G A G G A A C C A
A G G T G G A A A T C A A A C G T A C G G T A G C G G C C C C A T C T G T C T T
C A T C T T C C C G C C A T C T G A T G A G C A G T T G A A A T C T G G A A C T
G C C T C T G T T G T G T G C C T G C T G A A T A A C T T C T A T C C C A G A G
A G G C C A A A G T A C A G T G G A A G G T G G A T A A C G C C C T C C A A T C
G G G T A A C T C C C A G G A G A G T G T C A C A G A G C A G G A C A G C A A G
G A C A G C A C C T A C A G C C T C A G C A G C A C C C T G A C G C T G A G C A
A A G C A G A C T A C G A G A A A C A C A A A G T C T A C G C C T G C G A A G T
C A C C C A T C A G G G C C T G A G C T C G C C C G T C A C A A A G A G C T T C
A A C A G G G G A G A G T G T T A G (配列番号372)。

30

40

【0620】

本発明の別の実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、配列番号173の可変重鎖ポリペプチド配列をコードする次のようなポリヌクレオチド配列を含むか、あるいはこれよりなる：

【0621】

G A G G T G C A G C T G G T G G A G T C T G G G G G A G G C T T G G T C C A G
C C T G G G G G G T C C C T G A G A C T C T C C T G T G C A G C C T C T G G A T
T C A C C G T C A G T G G C T A C A A C T T G G T C T G G G T C C G T C A G G C

50

TCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTTCGGATTCAATTAGTTAT
GGTGATACCACTACTACGCTAGCTCTGCTAAAGGCCGAT
TCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACCCCTGTATCT
TCAAATGAACAGCCTGAGAGCTGAGGACACTGCTGTGTAT
TACTGTGCTAGAGAGACTGCTAATACTTATGATTATGGCA
TCTGGGGCCAAAGGGACCCCTCGTCAACCGTCTCGAGC（配列番号
373）。

【0622】

本発明の一実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、配列番号174の重鎖ポリペ
プチド配列をコードする次のようなポリヌクレオチド配列を含むか、あるいはこれよりな
る：

GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCCAGC
CTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATT
CACCGTCAAGTGGCTACAACTTGGTCTGGGTCCGTCAAGGCT
CCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTTCGGATTCAATTAGTTATG
GTGATACCACTACTACGCTAGCTCTGCTAAAGGCCGATT
CACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACCCCTGTATCTT
CAAATGAACAGCCTGAGAGCTGAGGACACTGCTGTGTATT
ACTGTGCTAGAGAGACTGCTAATACTTATGATTATGGCAT
CTGGGGGCCAAAGGGACCCCTCGTCAACCGTCTCGAGCGCCTCC
ACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCA
AGAGCACCTCTGGGGGACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGT
CAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGGGAAC
TCAGGCGGCCCTGACCAAGCGGCGTGCACACCTTCCCCGGCTG
TCCTACAGTCTCTCAGGACTCTACTCCTCAGCAGCGTGGT
GACCGTGCCTCTCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATC
TGCAACGTGAATCACAAAGCCCAAGCAACCAAGGTGGACA
AGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACATG
CCCACCGTGCCCAAGCACCTGAACCTCCTGGGGGGACCGTCA
GTCTTCTCTTCCCCCCAAACCCAAAGGACACCCCTCATGA
TCTCCCCGGACCCCTGAGGTCAACATGCGTGGTGGTGGACGT
GAGCCACGAAGACCCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTG
GACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGG
AGGAGCAGTACGCCAGCACGTACCGTGTGGTCAAGCGTCTCT
CACCGTCTCTGCACCAAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTAC
AAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAAGCCCCCATCG
AGAAAACCATCTCCAAGCCCAAGGGCAGCCCCGAGAACCC
ACAGGTGTACACCCCTGCCCCCATCCCCGGGAGGAGATGACC
AAGAACCAAGGTCAAGCCTGACCTGCCCTGGTCAAAGGCTTCT
ATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCA
GCCGGAGAACAACTACAAGACCAACGCCCTCCCGTGTGGAC
TCCGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCGGTGG
ACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTC
CGTGATGCATGAGGCTCTGCACAAACCACTACACGCAGAA
AGCCTCTCCCCGTCTCCGGGTAAATGA（配列番号374）。

【0623】

本発明のさらなる実施形態では、NGFに対する結合特異性を有する抗体フラグメント
をコードするポリヌクレオチドは、配列番号171の軽鎖可変配列または配列番号172
の軽鎖配列の相補性決定領域（CDRまたは超可変領域）をコードするポリヌクレオチド
に対応する配列番号375、配列番号376および配列番号377のポリヌクレオチド配

10

20

30

40

50

列を1つ以上含むか、あるいはこれよりなる。

【0624】

本発明のさらなる実施形態では、NGFに対する結合特異性を有する抗体フラグメントをコードするポリヌクレオチドは、配列番号173の重鎖可変配列または配列番号174の重鎖配列の相補性決定領域(CDRまたは超可変領域)をコードするポリヌクレオチドに対応する配列番号378、配列番号379および配列番号380のポリヌクレオチド配列を1つ以上含むか、あるいはこれよりなる。

【0625】

また本発明は、本明細書に記載の抗体フラグメントをコードするポリヌクレオチド配列を1つ以上含むポリヌクレオチド配列も企図する。本発明の一実施形態では、NGFに対する結合特異性を有する抗体フラグメントをコードするポリヌクレオチドは、抗体フラグメントをコードする次のようなポリヌクレオチドを、そのすべても含め、1つ、2つ、3つまたはそれ以上含むか、あるいはこれよりなる：配列番号171の軽鎖可変配列をコードするポリヌクレオチド配列番号371；配列番号172の軽鎖配列をコードするポリヌクレオチド配列番号372；配列番号173の重鎖可変配列をコードするポリヌクレオチド配列番号373；配列番号174の重鎖配列をコードするポリヌクレオチド配列番号374；配列番号171の軽鎖可変配列または配列番号172の軽鎖配列の相補性決定領域をコードするポリヌクレオチド(配列番号375、配列番号376および配列番号377)；および配列番号173の重鎖可変配列または配列番号174の重鎖配列の相補性決定領域をコードするポリヌクレオチド(配列番号378、配列番号379および配列番号380)。

【0626】

本発明の好適な実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、NGFに対する結合特異性を有するFab(抗原結合フラグメント)フラグメントをコードするポリヌクレオチドを含むか、あるいはこれよりなる。抗体Ab18に関して、完全長Ab18抗体をコードするポリヌクレオチドは、配列番号172の軽鎖配列をコードするポリヌクレオチド配列番号372および配列番号174の重鎖配列をコードするポリヌクレオチド配列番号374を含むか、あるいはこれよりなる。

【0627】

本発明の別の実施形態は、CHO、NSO、HEK-293などの哺乳動物細胞で、または真菌、昆虫、植物、動物で、または細菌細胞もしくは酵母ピキア(Pichia)のような酵母細胞などの微生物系で発現させるために発現ベクター内に組み込んだ、上記ポリヌクレオチドを企図する。適当なピキア(Pichia)種としては、特に限定されないが、ピキア・パストリス(Pichia pastoris)が挙げられる。本明細書に記載の本発明の一実施形態(下記)では、適当な宿主内で完全長ポリヌクレオチドを発現させた後に、Ab18の酵素消化(例えば、パパイン)によりFabフラグメントを作製してもよい。本発明の別の実施形態では、CHO、NSOもしくはHEK293細胞などの哺乳動物細胞、真菌、昆虫、植物、または酵母細胞(例えば、二倍体ピキア属(Pichia)のような二倍体酵母)その他の酵母菌株などの微生物系でのAb18ポリヌクレオチドの発現により、Ab18またはそのFabフラグメントのような抗NGF抗体を作製してもよい。適当なピキア(Pichia)種としては、特に限定されないが、ピキア・パストリス(Pichia pastoris)が挙げられる。

【0628】

抗体Ab19

別の実施形態では、さらに本発明は、NGFとTrkAとの結合およびNGFとTrkAとの結合を阻害する抗NGF抗体およびそのフラグメントをコードするポリヌクレオチドに関する。さらに本発明は、NGFに対する結合特異性を有する抗体ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドに関する。本発明の一実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、配列番号181の可変軽鎖ポリペプチド配列をコードする次のようなポリヌクレオチド配列を含むか、あるいはこれよりなる：

【0629】

GCCGCCCGTGCTGACCCAGACTCCATCTCCCGTGCTGCA
GCTGTGGGAGGACAGTCAGCATCAGTTGCCAGTCCAGTCA
AGAAATGTTTATAAGAACAACTATTTATCCTGGTATCAGCA
GAAACCAGGGCAGCCTCCCAAGCTCCTGATCTACAAGGCT
TCCACTCTGGGCATCTGGGGGTCCCATCGCGGTTCAAAGGCA
GTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCGACGT
GCAGTGTGACGCTGCTGCCACTTACTACTGTGCAGGCGGT
TATAGTAGTAGTAGTAGTAAATGCTTTTCGGCGGAGGGACCG
AGGTGGTGGTCAAAACGT (配列番号381)。

10

【0630】

本発明の一実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、配列番号182の軽鎖ポリペプチド配列をコードする次のようなポリヌクレオチド配列を含むか、あるいはこれよりなる：

【0631】

GCCGCCCGTGCTGACCCAGACTCCATCTCCCGTGCTGCA
GCTGTGGGAGGACAGTCAGCATCAGTTGCCAGTCCAGTCA
AGAAATGTTTATAAGAACAACTATTTATCCTGGTATCAGCA
GAAACCAGGGCAGCCTCCCAAGCTCCTGATCTACAAGGCT
TCCACTCTGGGCATCTGGGGGTCCCATCGCGGTTCAAAGGCA
GTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCGACGT
GCAGTGTGACGCTGCTGCCACTTACTACTGTGCAGGCGGT
TATAGTAGTAGTAGTAGTAAATGCTTTTCGGCGGAGGGACCG
AGGTGGTGGTCAAAACGTACGGGTAGCGGCCCCCATCTGTCTT
CATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAACCT
GCCTCTGTGTGTGCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAG
AGGCCAAAGTACAGTGGAAAGGTGGATAACGCCCTCCAATC
GGGTAACTCCCAAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAG
GACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCCTGACGCTGAGCA
AAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCCTGCGAAGT
CACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCAACAAAGAGCTTC
AACAGGGGAGAGTGTTAG (配列番号382)。

20

30

【0632】

本発明の別の実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、配列番号183の可変重鎖ポリペプチド配列をコードする次のようなポリヌクレオチド配列を含むか、あるいはこれよりなる：

【0633】

CAGTCGGTGGAAGGCGTCCGGGGGTCTGTCTGGTCAATGCCCT
GGAGGATCCCTGACACTCACCTGCACAGCCTCTGGATTCTT
CCCTCAGTACCTACTGGATGTCTCTGGGTCCGCCAGGCTCC
AGGGAAAGGGGCTGGAATGGATCGGAGACATTTATTTTAGT
AATGAGGAAACAAACCTACGCGACCTGGGCGAAAGGCCGAT
TTACCATCTCCAACCTCGACCAACGGTGGATCTGAATGT
CATCAGTCCGACAACCGAGGACACGGCCACCTATTTCTGT
GCAAGAGGTTCCTCTGATGTTGAGATTGCTATAGATATGT
GGGGCCAGGGCACCCCTCGTCAACCGTCTCGAGC (配列番号383)。

40

【0634】

本発明の一実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、配列番号184の重鎖ポリペプチド配列をコードする次のようなポリヌクレオチド配列を含むか、あるいはこれよりな

50

る：

CAGTCGGTGGAGGCGTCCGGGGGTCGTCTGGTCAATGCCCTG
 GAGGATCCCTGACACTCACCTGCACAGCCTCTGGATTCTC
 CCTCAGTACCTACTGGATGTCTCTGGGTCCGCCAGGCTCCA
 GGGAAAGGGGCTGGAATGGATCGGAGACATTTATTTTAGTA
 ATGAGGAAACAAACTACGCGACCTGGGCGAAAGGCCGATT
 TACCATCTCCAAACCTCGACCACGGTGGATCTGAATGTC
 ATCAGTCCGACAAACCGAGGACACGGCCACCTATTTCTGTG
 CAAGAGGTTCTCTCTGATGTTGAGATTGCTATAGATATGTG
 GGGCCAGGGCACCCCTCGTCAACGCTCTCGAGCGCCTCCACC
 AAGGGCCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGA
 GCACCTCTGGGGGACACAGCGGCCCTGGGCTGCCCTGGTCAA
 GGACTACTTCCCCGAAACCGGTGACGGTGTCTGGTGAACCTCA
 GCGGCCCTGACCAAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCC
 TACAGTCCCTCAGGACTCTACTCTCCCTCAGCAGCGTGGTGAC
 CGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCAACCCAGACCTACATCTGC
 AACGTGAATCACAAAGCCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGA
 GAGTTGAGCCCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCC
 ACCGTGCCCAAGCACCTGAACCTCTGGGGGGACCGTCAAGTC
 TTCCTCTTCCCCCCCCAAAACCCAAAGGACACCCCTCATGATCT
 CCGGACCCCTGAGGTCAACATGCGTGGTGGTGGACGTGAG
 CCACGAAGACCCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGAC
 GCGGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGG
 AGCAGTACGCCAGCACGTAACCGTGTGGTCAAGCGTCTCTAC
 CGTCTCTGCACCAAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAG
 TGCAAGGTCTCCAAACAAAGCCCTCCCAGCCCCCATCGAGA
 AAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCAACA
 GGTGTACACCCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAG
 AACCAAGGTCAAGCCTGACCTGCTGTGGTCAAAGGCTTCTATC
 CCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCGAGCC
 GGAGAACAACTACAAAGACCAACGCCCTCCCGTGTGGACTCC
 GACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACA
 AGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGT
 GATGCATGAGGCTCTGCACAAACCACTACACGCAGAAAGAGC
 CTCTCCCTGTCTCCGGGTAAATGA（配列番号384）。

【0635】

本発明のさらなる実施形態では、NGFに対する結合特異性を有する抗体フラグメントをコードするポリヌクレオチドは、配列番号181の軽鎖可変配列または配列番号182の軽鎖配列の相補性決定領域（CDRまたは超可変領域）をコードするポリヌクレオチドに対応する配列番号385、配列番号386および配列番号387のポリヌクレオチド配列を1つ以上含むか、あるいはこれよりなる。

【0636】

本発明のさらなる実施形態では、NGFに対する結合特異性を有する抗体フラグメントをコードするポリヌクレオチドは、配列番号183の重鎖可変配列または配列番号184の重鎖配列の相補性決定領域（CDRまたは超可変領域）をコードするポリヌクレオチドに対応する配列番号388、配列番号389および配列番号390のポリヌクレオチド配列を1つ以上含むか、あるいはこれよりなる。

【0637】

また本発明は、本明細書に記載の抗体フラグメントをコードするポリヌクレオチド配列を1つ以上含むポリヌクレオチド配列も企図する。本発明の一実施形態では、NGFに対

する結合特異性を有する抗体フラグメントをコードするポリヌクレオチドは、抗体フラグメントをコードする次のようなポリヌクレオチドを、そのすべても含め、1つ、2つ、3つまたはそれ以上含むか、あるいはこれよりなる：配列番号181の軽鎖可変配列をコードするポリヌクレオチド配列番号381；配列番号182の軽鎖配列をコードするポリヌクレオチド配列番号382；配列番号183の重鎖可変配列をコードするポリヌクレオチド配列番号383；配列番号184の重鎖配列をコードするポリヌクレオチド配列番号384；配列番号181の軽鎖可変配列または配列番号182の軽鎖配列の相補性決定領域をコードするポリヌクレオチド（配列番号385、配列番号386および配列番号387）；および配列番号183の重鎖可変配列または配列番号184の重鎖配列の相補性決定領域をコードするポリヌクレオチド（配列番号388、配列番号389および配列番号390）。

10

【0638】

本発明の好適な実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、NGFに対する結合特異性を有するFab（抗原結合フラグメント）フラグメントをコードするポリヌクレオチドを含むか、あるいはこれよりなる。抗体Ab19に関して、完全長Ab19抗体をコードするポリヌクレオチドは、配列番号182の軽鎖配列をコードするポリヌクレオチド配列番号382および配列番号184の重鎖配列をコードするポリヌクレオチド配列番号384を含むか、あるいはこれよりなる。

【0639】

本発明の別の実施形態は、CHO、NSO、HEK-293などの哺乳動物細胞で、または真菌、昆虫、植物で、または酵母ピキア（*Pichia*）のような酵母細胞などの微生物系で発現させるために発現ベクター内に組み込んだ、上記ポリヌクレオチドを企図する。適当なピキア（*Pichia*）種としては、特に限定されないが、ピキア・パストリス（*Pichia pastoris*）が挙げられる。本明細書に記載の本発明の一実施形態（下記）では、適当な宿主内で完全長ポリヌクレオチドを発現させた後に、Ab19の酵素消化（例えば、パパイン）によりFabフラグメントを作製してもよい。本発明の別の実施形態では、CHO、NSOもしくはHEK293細胞などの哺乳動物細胞、真菌、昆虫、植物、動物、または細菌細胞もしくは酵母細胞（例えば、二倍体ピキア属（*Pichia*）のような二倍体酵母）その他の酵母菌株などの微生物系でのAb19ポリヌクレオチドの発現により、Ab19またはそのFabフラグメントのような抗NGF抗体を作製してもよい。適当なピキア（*Pichia*）種としては、特に限定されないが、ピキア・パストリス（*Pichia pastoris*）が挙げられる。

20

30

【0640】

抗体Ab20

別の実施形態では、さらに本発明は、NGFとTrkAとの結合およびNGFとTrkAとの結合を阻害する抗NGF抗体およびそのフラグメントをコードするポリヌクレオチドに関する。さらに本発明は、NGFに対する結合特異性を有する抗体ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドに関する本発明の一実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、配列番号191の可変軽鎖ポリペプチド配列をコードする次のようなポリヌクレオチド配列を含むか、あるいはこれよりなる：

40

【0641】

GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCA
TCTGTAGGAGACAGAGTCAACCATCACTTGCCAGTCCAGTCA
AGAAATGTTTATAAGAACAACTACTTATCCTGGTATCAGCA
GAAACCAGGGAAAGTCCCTAAGCTCCTGATCTATAAGGCA
TCCACTCTGGCATCTGGGGTCCCATCTCGTTTTCAGTGGCA
GTGGATCTTGGGACAGATTTCACCTCTCACCATCAGCAGCCT
GCAGCCTGAAGATGTTGCAACTTATTA CTGTGCAGGCGGT
TATACCAGTAGTAGTGATAATGCTTTTCGGCGGAGGAACCA
AGGTGGAAATCAAACTG（配列番号391）。

50

【0642】

本発明の一実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、配列番号192の軽鎖ポリペプチド配列をコードする次のようなポリヌクレオチド配列を含むか、あるいはこれよりなる：

【0643】

GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCA
TCTGTAGGAGACAGAGTCAACCATCACTTGCCAGTCCAGTCA
AGAAATGTTTATAAGAACAACTACTTATCCTGGTATCAGCA
GAAACCAGGGAAAGTCCCTAAGCTCCTGATCTATAAGGCA
TCCACTCTTGGCATCTGGGGTCCCATCTCGTTTTCAGTGGCA
GTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCT
GCAGCCTGAAGATGTTGCAACTTATTACTGTGCAGGCGGT
TATACCAGTAGTAGTGATAATGCTTTTCGGCGGAGGAACCA
AGGTGGAAATCAAACGTACGGTAGCGGCCCCATCTGTCTT
CATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAACT
GCCTCTGTGTGTGCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAG
AGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATC
GGGTAACTCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAG
GACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCCTGACGCTGAGCA
AAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCCTGCGAAGT
CACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCAAAAGAGCTTTC
AACAGGGGAGAGTGTTAG (配列番号392)。

10

20

【0644】

本発明の別の実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、配列番号193の可変重鎖ポリペプチド配列をコードする次のようなポリヌクレオチド配列を含むか、あるいはこれよりなる：

【0645】

GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCCAG
CCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGAT
TCACCGTCAGTACCTACTGGATGAGCTGGGTCCGTCAAGGC
TCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCTGGAGACATTTACTTT
AGTAATGAAGAAACAAACTACGCGACCAAGCGCGAAAGGCC
GATTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAAGAACACCCCTGT
TCTTCAAATGAACAGCCTGAGAGCTGAGGACACTGCTGTG
TATTACTGTGCTAGAGGTTCTCCTGATGTTGAGATTGCTA
TAGATAATGTGGGGCCAAAGGGACCCCTCGTCAACCGTCTCGAG
C (配列番号393)。

30

【0646】

本発明の一実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、配列番号194の重鎖ポリペプチド配列をコードする次のようなポリヌクレオチド配列を含むか、あるいはこれよりなる：

GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCCAGC
CTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTT
CACCGTCAGTACCTACTGGATGAGCTGGGTCCGTCAAGGCT
CCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCTGGAGACATTTACTTTA
GTAATGAAGAAACAAACTACGCGACCAAGCGCGAAAGGCCG
ATTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAAGAACACCCCTGTAT
CTTCAAATGAACAGCCTGAGAGCTGAGGACACTGCTGTGT
ATTACTGTGCTAGAGGTTCTCCTGATGTTGAGATTGCTAT
AGATAATGTGGGGCCAAAGGGACCCCTCGTCAACCGTCTCGAGC

40

50

GCCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCT
CCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCGACAGCGGCCCTGGGGCTG
CCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTG
TGGAACTCAGGCGCCCTGACCAAGCGGCGTGACACACCTTCC
CGGCTGTCTCTACAGTCTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAG
CGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCGACCCAGACCC
TACATCTGCAACGTGAATCACCAAGCCCCAGCAACACCAAGG
TGGACAAGAGAGTTGAGCCCCAAATCTTGTGACAAAACCTCA
CACATGCCCAACCGTGCCCCAGCACCTGAACCTCCTGGGGGGA
CCGTCAGTCTTCTCTCTCCCCCCTGAGGTTACATGCGTGGTGGT
GGACGTGAGCCACGAAGACCCCTGAGGTTCAAGTTCAACTGG
TACGTGGACGGCGTGAGGTTGCATAATGCCAAGACAAAGC
CGCGGGGAGGAGCAGTACGCCAGCACGTACCGTGTGGTCAAG
CGTCTCTACCGTCTCTGCACCAAGGACTGGCTGAATGGCAAG
GAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCCAGCCC
CCATCTGAGAAAACCATCTCCAAGGCCAAAGGGCAGCCCCG
AGAACCCACAGGTGTACACCCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAG
ATGACCAAGAACCAGGTCAAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAG
GCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTTGGAGTGGGAGAGCAA
TGGGCGAGCCGGAGAACAACTACAAGACCAAGCCTCCCGTG
CTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCA
CCGTGGACAAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTC
ATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCAACAACCACTACACG
CAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAATGA（配列番号39
4）。

【0647】

本発明のさらなる実施形態では、NGFに対する結合特異性を有する抗体フラグメントをコードするポリヌクレオチドは、配列番号191の軽鎖可変配列または配列番号192の軽鎖配列の相補性決定領域（CDRまたは超可変領域）をコードするポリヌクレオチド
10
20
30
40
50
60
70
80
90
100
110
120
130
140
150
160
170
180
190
200
210
220
230
240
250
260
270
280
290
300
310
320
330
340
350
360
370
380
390
400
410
420
430
440
450
460
470
480
490
500
510
520
530
540
550
560
570
580
590
600
610
620
630
640
650
660
670
680
690
700
710
720
730
740
750
760
770
780
790
800
810
820
830
840
850
860
870
880
890
900
910
920
930
940
950
960
970
980
990
1000
1010
1020
1030
1040
1050
1060
1070
1080
1090
1100
1110
1120
1130
1140
1150
1160
1170
1180
1190
1200
1210
1220
1230
1240
1250
1260
1270
1280
1290
1300
1310
1320
1330
1340
1350
1360
1370
1380
1390
1400
1410
1420
1430
1440
1450
1460
1470
1480
1490
1500
1510
1520
1530
1540
1550
1560
1570
1580
1590
1600
1610
1620
1630
1640
1650
1660
1670
1680
1690
1700
1710
1720
1730
1740
1750
1760
1770
1780
1790
1800
1810
1820
1830
1840
1850
1860
1870
1880
1890
1900
1910
1920
1930
1940
1950
1960
1970
1980
1990
2000
2010
2020
2030
2040
2050
2060
2070
2080
2090
2100
2110
2120
2130
2140
2150
2160
2170
2180
2190
2200
2210
2220
2230
2240
2250
2260
2270
2280
2290
2300
2310
2320
2330
2340
2350
2360
2370
2380
2390
2400
2410
2420
2430
2440
2450
2460
2470
2480
2490
2500
2510
2520
2530
2540
2550
2560
2570
2580
2590
2600
2610
2620
2630
2640
2650
2660
2670
2680
2690
2700
2710
2720
2730
2740
2750
2760
2770
2780
2790
2800
2810
2820
2830
2840
2850
2860
2870
2880
2890
2900
2910
2920
2930
2940
2950
2960
2970
2980
2990
3000
3010
3020
3030
3040
3050
3060
3070
3080
3090
3100
3110
3120
3130
3140
3150
3160
3170
3180
3190
3200
3210
3220
3230
3240
3250
3260
3270
3280
3290
3300
3310
3320
3330
3340
3350
3360
3370
3380
3390
3400
3410
3420
3430
3440
3450
3460
3470
3480
3490
3500
3510
3520
3530
3540
3550
3560
3570
3580
3590
3600
3610
3620
3630
3640
3650
3660
3670
3680
3690
3700
3710
3720
3730
3740
3750
3760
3770
3780
3790
3800
3810
3820
3830
3840
3850
3860
3870
3880
3890
3900
3910
3920
3930
3940
3950
3960
3970
3980
3990
4000
4010
4020
4030
4040
4050
4060
4070
4080
4090
4100
4110
4120
4130
4140
4150
4160
4170
4180
4190
4200
4210
4220
4230
4240
4250
4260
4270
4280
4290
4300
4310
4320
4330
4340
4350
4360
4370
4380
4390
4400
4410
4420
4430
4440
4450
4460
4470
4480
4490
4500
4510
4520
4530
4540
4550
4560
4570
4580
4590
4600
4610
4620
4630
4640
4650
4660
4670
4680
4690
4700
4710
4720
4730
4740
4750
4760
4770
4780
4790
4800
4810
4820
4830
4840
4850
4860
4870
4880
4890
4900
4910
4920
4930
4940
4950
4960
4970
4980
4990
5000
5010
5020
5030
5040
5050
5060
5070
5080
5090
5100
5110
5120
5130
5140
5150
5160
5170
5180
5190
5200
5210
5220
5230
5240
5250
5260
5270
5280
5290
5300
5310
5320
5330
5340
5350
5360
5370
5380
5390
5400
5410
5420
5430
5440
5450
5460
5470
5480
5490
5500
5510
5520
5530
5540
5550
5560
5570
5580
5590
5600
5610
5620
5630
5640
5650
5660
5670
5680
5690
5700
5710
5720
5730
5740
5750
5760
5770
5780
5790
5800
5810
5820
5830
5840
5850
5860
5870
5880
5890
5900
5910
5920
5930
5940
5950
5960
5970
5980
5990
6000
6010
6020
6030
6040
6050
6060
6070
6080
6090
6100
6110
6120
6130
6140
6150
6160
6170
6180
6190
6200
6210
6220
6230
6240
6250
6260
6270
6280
6290
6300
6310
6320
6330
6340
6350
6360
6370
6380
6390
6400
6410
6420
6430
6440
6450
6460
6470
6480
6490
6500
6510
6520
6530
6540
6550
6560
6570
6580
6590
6600
6610
6620
6630
6640
6650
6660
6670
6680
6690
6700
6710
6720
6730
6740
6750
6760
6770
6780
6790
6800
6810
6820
6830
6840
6850
6860
6870
6880
6890
6900
6910
6920
6930
6940
6950
6960
6970
6980
6990
7000
7010
7020
7030
7040
7050
7060
7070
7080
7090
7100
7110
7120
7130
7140
7150
7160
7170
7180
7190
7200
7210
7220
7230
7240
7250
7260
7270
7280
7290
7300
7310
7320
7330
7340
7350
7360
7370
7380
7390
7400
7410
7420
7430
7440
7450
7460
7470
7480
7490
7500
7510
7520
7530
7540
7550
7560
7570
7580
7590
7600
7610
7620
7630
7640
7650
7660
7670
7680
7690
7700
7710
7720
7730
7740
7750
7760
7770
7780
7790
7800
7810
7820
7830
7840
7850
7860
7870
7880
7890
7900
7910
7920
7930
7940
7950
7960
7970
7980
7990
8000
8010
8020
8030
8040
8050
8060
8070
8080
8090
8100
8110
8120
8130
8140
8150
8160
8170
8180
8190
8200
8210
8220
8230
8240
8250
8260
8270
8280
8290
8300
8310
8320
8330
8340
8350
8360
8370
8380
8390
8400
8410
8420
8430
8440
8450
8460
8470
8480
8490
8500
8510
8520
8530
8540
8550
8560
8570
8580
8590
8600
8610
8620
8630
8640
8650
8660
8670
8680
8690
8700
8710
8720
8730
8740
8750
8760
8770
8780
8790
8800
8810
8820
8830
8840
8850
8860
8870
8880
8890
8900
8910
8920
8930
8940
8950
8960
8970
8980
8990
9000
9010
9020
9030
9040
9050
9060
9070
9080
9090
9100
9110
9120
9130
9140
9150
9160
9170
9180
9190
9200
9210
9220
9230
9240
9250
9260
9270
9280
9290
9300
9310
9320
9330
9340
9350
9360
9370
9380
9390
9400
9410
9420
9430
9440
9450
9460
9470
9480
9490
9500
9510
9520
9530
9540
9550
9560
9570
9580
9590
9600
9610
9620
9630
9640
9650
9660
9670
9680
9690
9700
9710
9720
9730
9740
9750
9760
9770
9780
9790
9800
9810
9820
9830
9840
9850
9860
9870
9880
9890
9900
9910
9920
9930
9940
9950
9960
9970
9980
9990
10000

【0648】

本発明のさらなる実施形態では、NGFに対する結合特異性を有する抗体フラグメントをコードするポリヌクレオチドは、配列番号193の重鎖可変配列または配列番号194の重鎖配列の相補性決定領域（CDRまたは超可変領域）をコードするポリヌクレオチド
10
20
30
40
50
60
70
80
90
100
110
120
130
140
150
160
170
180
190
200
210
220
230
240
250
260
270
280
290
300
310
320
330
340
350
360
370
380
390
400
410
420
430
440
450
460
470
480
490
500
510
520
530
540
550
560
570
580
590
600
610
620
630
640
650
660
670
680
690
700
710
720
730
740
750
760
770
780
790
800
810
820
830
840
850
860
870
880
890
900
910
920
930
940
950
960
970
980
990
1000
1010
1020
1030
1040
1050
1060
1070
1080
1090
1100
1110
1120
1130
1140
1150
1160
1170
1180
1190
1200
1210
1220
1230
1240
1250
1260
1270
1280
1290
1300
1310
1320
1330
1340
1350
1360
1370
1380
1390
1400
1410
1420
1430
1440
1450
1460
1470
1480
1490
1500
1510
1520
1530
1540
1550
1560
1570
1580
1590
1600
1610
1620
1630
1640
1650
1660
1670
1680
1690
1700
1710
1720
1730
1740
1750
1760
1770
1780
1790
1800
1810
1820
1830
1840
1850
1860
1870
1880
1890
1900
1910
1920
1930
1940
1950
1960
1970
1980
1990
2000
2010
2020
2030
2040
2050
2060
2070
2080
2090
2100
2110
2120
2130
2140
2150
2160
2170
2180
2190
2200
2210
2220
2230
2240
2250
2260
2270
2280
2290
2300
2310
2320
2330
2340
2350
2360
2370
2380
2390
2400
2410
2420
2430
2440
2450
2460
2470
2480
2490
2500
2510
2520
2530
2540
2550
2560
2570
2580
2590
2600
2610
2620
2630
2640
2650
2660
2670
2680
2690
2700
2710
2720
2730
2740
2750
2760
2770
2780
2790
2800
2810
2820
2830
2840
2850
2860
2870
2880
2890
2900
2910
2920
2930
2940
2950
2960
2970
2980
2990
3000
3010
3020
3030
3040
3050
3060
3070
3080
3090
3100
3110
3120
3130
3140
3150
3160
3170
3180
3190
3200
3210
3220
3230
3240
3250
3260
3270
3280
3290
3300
3310
3320
3330
3340
3350
3360
3370
3380
3390
3400
3410
3420
3430
3440
3450
3460
3470
3480
3490
3500
3510
3520
3530
3540
3550
3560
3570
3580
3590
3600
3610
3620
3630
3640
3650
3660
3670
3680
3690
3700
3710
3720
3730
3740
3750
3760
3770
3780
3790
3800
3810
3820
3830
3840
3850
3860
3870
3880
3890
3900
3910
3920
3930
3940
3950
3960
3970
3980
3990
4000
4010
4020
4030
4040
4050
4060
4070
4080
4090
4100
4110
4120
4130
4140
4150
4160
4170
4180
4190
4200
4210
4220
4230
4240
4250
4260
4270
4280
4290
4300
4310
4320
4330
4340
4350
4360
4370
4380
4390
4400
4410
4420
4430
4440
4450
4460
4470
4480
4490
4500
4510
4520
4530
4540
4550
4560
4570
4580
4590
4600
4610
4620
4630
4640
4650
4660
4670
4680
4690
4700
4710
4720
4730
4740
4750
4760
4770
4780
4790
4800
4810
4820
4830
4840
4850
4860
4870
4880
4890
4900
4910
4920
4930
4940
4950
4960
4970
4980
4990
5000
5010
5020
5030
5040
5050
5060
5070
5080
5090
5100
5110
5120
5130
5140
5150
5160
5170
5180
5190
5200
5210
5220
5230
5240
5250
5260
5270
5280
5290
5300
5310
5320
5330
5340
5350
5360
5370
5380
5390
5400
5410
5420
5430
5440
5450
5460
5470
5480
5490
5500
5510
5520
5530
5540
5550
5560
5570
5580
5590
5600
5610
5620
5630
5640
5650
5660
5670
5680
5690
5700
5710
5720
5730
5740
5750
5760
5770
5780
5790
5800
5810
5820
5830
5840
5850
5860
5870
5880
5890
5900
5910
5920
5930
5940
5950
5960
5970
5980
5990
6000
6010
6020
6030
6040
6050
6060
6070
6080
6090
6100
6110
6120
6130
6140
6150
6160
6170
6180
6190
6200
6210
6220
6230
6240
6250
6260
6270
6280
6290
6300
6310
6320
6330
6340
6350
6360
6370
6380
6390
6400
6410
6420
6430
6440
6450
6460
6470
6480
6490
6500
6510
6520
6530
6540
6550
6560
6570
6580
6590
6600
6610
6620
6630
6640
6650
6660
6670
6680
6690
6700
6710
6720
6730
6740
6750
6760
6770
6780
6790
6800
6810
6820
6830
6840
6850
6860
6870
6880
6890
6900
6910
6920
6930
6940
6950
6960
6970
6980
6990
7000
7010
7020
7030
7040
7050
7060
7070
7080
7090
7100
7110
7120
7130
7140
7150
7160
7170
7180
7190
7200
7210
7220
7230
7240
7250
7260
7270
7280
7290
7300
7310
7320
7330
7340
7350
7360
7370
7380
7390
7400
7410
7420
7430
7440
7450
7460
7470
7480
7490
7500
7510
7520
7530
7540
7550
7560
7570
7580
7590
7600
7610
7620
7630
7640
7650
7660
7670
7680
7690
7700
7710
7720
7730
7740
7750
7760
7770
7780
7790
7800
7810
7820
7830
7840
7850
7860
7870
7880
7890
7900
7910
7920
7930
7940
7950
7960
7970
7980
7990
8000
8010
8020
8030
8040
8050
8060
8070
8080
8090
8100
8110
8120
8130
8140
8150
8160
8170
8180
8190
8200
8210
8220
8230
8240
8250
8260
8270
8280
8290
8300
8310
8320
8330
8340
8350
8360
8370
8380
8390
8400
8410
8420
8430
8440
8450
8460
8470
8480
8490
8500
8510
8520
8530
8540
8550
8560
8570
8580
8590
8600
8610
8620
8630
8640
8650
8660
8670
8680
8690
8700
8710
8720
8730
8740
8750
8760
8770
8780
8790
8800
8810
8820
8830
8840
8850
8860
8870
8880
8890
8900
8910
8920
8930
8940
8950
8960
8970
8980
8990
9000
9010
9020
9030
9040
9050
9060
9070
9080
9090
9100
9110
9120
9130
9140
9150
9160
9170
9180
9190
9200
9210
9220
9230
9240
9250
9260
9270
9280
9290
9300
9310
9320
9330
9340

領域をコードするポリヌクレオチド（配列番号 398、配列番号 399 および配列番号 400）。

【0650】

本発明の好適な実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、NGF に対する結合特異性を有する Fab（抗原結合フラグメント）フラグメントをコードするポリヌクレオチドを含むか、あるいはこれよりなる。抗体 Ab20 に関して、完全長 Ab20 抗体をコードするポリヌクレオチドは、配列番号 192 の軽鎖配列をコードするポリヌクレオチド配列番号 392 および配列番号 194 の重鎖配列をコードするポリヌクレオチド配列番号 394 を含むか、あるいはこれよりなる。

【0651】

本発明の別の実施形態は、CHO、NSO、HEK-293 などの哺乳動物細胞で、または真菌、昆虫、植物で、または酵母ピキア（*Pichia*）のような酵母細胞などの微生物系で発現させるために発現ベクター内に組み込んだ、上記ポリヌクレオチドを企図する。適当なピキア（*Pichia*）種としては、特に限定されないが、ピキア・パストリス（*Pichia pastoris*）が挙げられる。本明細書に記載の本発明の一実施形態（下記）では、適当な宿主内で完全長ポリヌクレオチドを発現させた後に、Ab20 の酵素消化（例えば、パパイン）により Fab フラグメントを作製してもよい。本発明の別の実施形態では、CHO、NSO もしくは HEK293 細胞などの哺乳動物細胞、真菌、昆虫、植物、動物、または細菌細胞もしくは酵母細胞（例えば、二倍体ピキア属（*Pichia*）のような二倍体酵母）その他の酵母菌株などの微生物系での Ab20 ポリヌクレオチドの発現により、Ab20 またはその Fab フラグメントのような抗 NGF 抗体を作製してもよい。適当なピキア（*Pichia*）種としては、特に限定されないが、ピキア・パストリス（*Pichia pastoris*）が挙げられる。

【0652】

抗体 Ab21

別の実施形態では、さらに本発明は、NGF と TrkA との結合および NGF と TrkA との結合を阻害する抗 NGF 抗体およびそのフラグメントをコードするポリヌクレオチドに関する。さらに本発明は、NGF に対する結合特異性を有する抗体ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドに関する。本発明の一実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、配列番号 51 の可変軽鎖ポリペプチド配列をコードする次のようなポリヌクレオチド配列を含むか、あるいはこれよりなる：

【0653】

GACATCCAGATGACCCAGTCTCCTTCCACCCCTGTCTGCA
TCTGTAGGAGACAGAGTCAACCATCACTTGCCAGGCCAGTCA
AGAGCATTTACAGCAATCTTGCCCTGGTATCAGCAGAAACC
AGGAAAAGCCCCCTAAGCTCCTGATCTATGATGCATCCACT
CTGGGAATCTGGAGTCCCATCAAGGTTCAAGCGGCAGTGGAT
CTGGGACAGAGTACACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAGCC
TGATGATTTTGGCAACTTACTACTGCCAACAGGGTTTTTACT
GTTAGTGATATTGATAATGCTTTCGGCGGAGGAACCAAGG
TGGAATACTAAACGT（配列番号 251）。

【0654】

本発明の一実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、配列番号 401 の軽鎖ポリペプチド配列をコードする次のようなポリヌクレオチド配列を含むか、あるいはこれよりなる：

【0655】

GACATCCAGATGACCCAGTCTCCTTCCACCCCTGTCTGCA
TCTGTAGGAGACAGAGTCAACCATCACTTGCCAGGCCAGTCA
AGAGCATTTACAGCAATCTTGCCCTGGTATCAGCAGAAACC
AGGAAAAGCCCCCTAAGCTCCTGATCTATGATGCATCCACT

CTGGAATCTGGAGTCCCATCAAGGTTTCAGCGGCAGTGGAT
CTGGGACAGAGTACACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAGCC
TGATGATTTTGCAACTTACTACTGCCAACAGGGTTTTACT
GTTAGTGATATTGATAATGCTTTTCGGCGGAGGAACCAAGG
TGGAAATCAAACGTACGGTAGCGGCCCCCATCTGTCTTTCAT
CTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAACCTGCC
TCTGTGTGTGCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGG
CCAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGG
TAACTCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGAC
AGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCTGACGCTGAGCAAAAG
CAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCAAC
CCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCAACAAAGAGCTTCAAC
AGGGGAGAGTGTTAG (配列番号403)。

10

【0656】

本発明の別の実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、配列番号53の可変重鎖ポリペプチド配列をコードする次のようなポリヌクレオチド配列を含むか、あるいはこれよりなる：

【0657】

GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCCAG
CCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGAT
TCACCGTCAAGTAACATAAGCAGTGGGCTGGGTCCGTCAAGGC
TCCAGGGAAGGGGGCTGGAGTGGGTCCGAATCATTGGTCTGT
AATGGTAACACATGGTACGCGAGCTCTGCAAGAGGCCCGAT
TCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACAACCTGTATCTT
TCAAATGAACAGCCTGAGAGCTGAGGACACTGCTGTGTAT
TACTGTGCTAGAGGATATGGCCGTAAGTGTTGCTTATTACG
TCTTTAACATCTGGGGGCCCAGGGACCCCTCGTCAACCGTCTC
GAGC (配列番号253)。

20

【0658】

本発明の一実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、配列番号402の重鎖ポリペプチド配列をコードする次のようなポリヌクレオチド配列を含むか、あるいはこれよりなる：

30

GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCCAGC
CTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTT
CACCGTCAAGTAACATAAGCAGTGGGCTGGGTCCGTCAAGGCT
CCAGGGAAGGGGGCTGGAGTGGGTCCGAATCATTGGTCTGT
AATGGTAACACATGGTACGCGAGCTCTGCAAGAGGCCCGATTT
CACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACAACCTGTATCTTT
CAAATGAACAGCCTGAGAGCTGAGGACACTGCTGTGTATTT
ACTGTGCTAGAGGATATGGCCGTAAGTGTTGCTTACTACGT
CTTTAACATCTGGGGGCCCAGGGACCCCTCGTCAACCGTCTCG
AGCGCCTCCACCAAGGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGGCAC
CCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGACAGCGGCCCTGGG
CTGCCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGT
TCGTGGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCAACACCT
TCCCGGCTGTCTTACAGTCTCTCAGGACTCTACTCCCTCAG
CAGCGTGGTGACCGGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAG
ACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAAGCCAGCAACACCA
AGGTGGACGCGAGAGTTGAGCCCAAAATCTTGTGACAAAAC
TCACACATGCCCAACCGTGCCCAAGCACCTGAACCTCTGGGG

40

50

GGACCGTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAAACCCCAAGGACA
CCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCAATGCGTGGT
GGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCCTGAGGTCAAGTTCAAC
TGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCAATAATGCCAAGACAA
AGCCGCGGGGAGGAGCAGTACGCCAGCACGTACCGTGTGGT
CAGCGTCCCTCACCGTCCCTGCACCAAGGACTGGCTGAATGGC
AAGGAGTACAAAGTGCAAGGTCTCCAAACAAGCCCTCCCAAG
CCCCCATCGAGAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCC
CCGAGAAACCAACAGGTGTACACCCCTGCCCCCAATCCCGGGAG
GAGATGACCAAGAACCAAGGTCAAGCCTGACCTGCCCTGGTCA
AAGGCTTCTATCCCAAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAG
CAATGGGCAGCCGGAGAACAACTACAAAGACCAAGCCCTCC
GTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGC
TCACCGTGGACAAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTT
CTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACCAACCACTAC
ACGCAGAAAGAGCCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAATGA（配列番
号404）。

10

【0659】

本発明のさらなる実施形態では、NGFに対する結合特異性を有する抗体フラグメントをコードするポリヌクレオチドは、配列番号51の軽鎖可変配列または配列番号401の軽鎖配列の相補性決定領域（CDRまたは超可変領域）をコードするポリヌクレオチドに対応する配列番号255、配列番号256および配列番号257のポリヌクレオチド配列を1つ以上含むか、あるいはこれよりなる。

20

【0660】

本発明のさらなる実施形態では、NGFに対する結合特異性を有する抗体フラグメントをコードするポリヌクレオチドは、配列番号53の重鎖可変配列または配列番号402の重鎖配列の相補性決定領域（CDRまたは超可変領域）をコードするポリヌクレオチドに対応する配列番号258、配列番号259および配列番号260のポリヌクレオチド配列を1つ以上含むか、あるいはこれよりなる。

【0661】

また本発明は、本明細書に記載の抗体フラグメントをコードするポリヌクレオチド配列を1つ以上含むポリヌクレオチド配列も企図する。本発明の一実施形態では、NGFに対する結合特異性を有する抗体フラグメントをコードするポリヌクレオチドは、抗体フラグメントをコードする次のようなポリヌクレオチドを、そのすべても含め、1つ、2つ、3つまたはそれ以上含むか、あるいはこれよりなる：配列番号51の軽鎖可変配列をコードするポリヌクレオチド配列番号251；配列番号401の軽鎖配列をコードするポリヌクレオチド配列番号403；配列番号53の重鎖可変配列をコードするポリヌクレオチド配列番号253；配列番号402の重鎖配列をコードするポリヌクレオチド配列番号404；配列番号51の軽鎖可変配列または配列番号401の軽鎖配列の相補性決定領域をコードするポリヌクレオチド（配列番号255、配列番号256および配列番号257）；および配列番号53の重鎖可変配列または配列番号402の重鎖配列の相補性決定領域をコードするポリヌクレオチド（配列番号258、配列番号259および配列番号260）。

30

40

【0662】

本発明の好適な実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、NGFに対する結合特異性を有するFab（抗原結合フラグメント）フラグメントをコードするポリヌクレオチドを含むか、あるいはこれよりなる。抗体Ab21に関して、完全長Ab21抗体をコードするポリヌクレオチドは、配列番号401の軽鎖配列をコードするポリヌクレオチド配列番号403および配列番号402の重鎖配列をコードするポリヌクレオチド配列番号404を含むか、あるいはこれよりなる。

【0663】

50

本発明の別の実施形態は、CHO、NSO、HEK-293などの哺乳動物細胞で、または真菌、昆虫、植物で、または酵母ピキア（*Pichia*）のような酵母細胞などの微生物系で発現させるために発現ベクター内に組み込んだ、上記ポリヌクレオチドを企図する。適当なピキア（*Pichia*）種としては、特に限定されないが、ピキア・パストリス（*Pichia pastoris*）が挙げられる。本明細書に記載の本発明の一実施形態（下記）では、適当な宿主内で完全長ポリヌクレオチドを発現させた後に、Ab21の酵素消化（例えば、パパイン）によりFabフラグメントを作製してもよい。本発明の別の実施形態では、CHO、NSOもしくはHEK293細胞などの哺乳動物細胞、真菌、昆虫、植物、動物、または細菌細胞もしくは酵母細胞（例えば、二倍体ピキア属（*Pichia*）のような二倍体酵母）その他の酵母菌株などの微生物系でのAb21ポリヌクレオチドの発現により、Ab21またはそのFabフラグメントのような抗NGF抗体を作製してもよい。適当なピキア（*Pichia*）種としては、特に限定されないが、ピキア・パストリス（*Pichia pastoris*）が挙げられる。

10

抗体フラグメントFab2

【0664】

別の実施形態では、本発明はさらに、NGFとTrkAとの会合、およびNGFとTrkAとの会合を抑制する抗NGF Fab断片をコードするポリヌクレオチドに関する。本発明はさらに、NGFとの結合特異性を有するFab抗体フラグメントポリペプチドをコードするポリヌクレオチドに関する。本発明の一実施形態では、本発明のFabポリヌクレオチドは、配列番号407の軽鎖ポリペプチド配列をコードする以下のポリヌクレオチド配列を含むか、代替的にはそれで構成される：

20

【化57】

GACATCCAGATGACCCAGTCTCCTTCCACCCTGTCTGCATCTGTAGGA
GACAGAGTCACCATCACTTGCCAGGCCAGTCAGAGCATTTACAGCAATCTTGC
CTGGTATCAGCAGAAACCAGGAAAAGCCCCCTAAGCTCCTGATCTATGATGCAT
CCACTCTGGAATCTGGAGTCCCATCAAGGTTTCAGCGGCAGTGGATCTGGGACA
GAGTACACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCTGATGATTTTGCAACTTACTAC
TGCCAACAGGGTTTTACTGTTAGTGATATTGATAATGCTTTTCGGCGGAGGAACC
AAGGTGGAAATCAAACGTACGGTAGCGGCCCCATCTGTCTTCATCTTCCCGCC
ATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAACTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAA
CTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAAT
CGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTA
CAGCCTCAGCAGCACCCCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAA
GTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAG
CTTCAACAGGGGAGAGTGTTAG（配列番号409）。

30

40

【0665】

本発明の別の実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、配列番号408の重鎖ポリペプチド配列をコードする以下のポリヌクレオチド配列を含むか、代替的にはそれで構成される：

【化 5 8】

GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCCAGCCTGGGGG
GTCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACCGTCAGTAACTATGCAGT
GGGCTGGGTCCGTCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCGGAATCATTG
GTCGTAATGGTAACACATGGTACGCGAGCTCTGCAAGAGGCCGATTACCATC
TCCAGAGACAATTCCAAGAACACCCTGTATCTTCAAATGAACAGCCTGAGAGC
TGAGGACACTGCTGTGTATTACTGTGCTAGAGGATATGGCCGTAGTGTGCTTA
CTACGTCTTTAACATCTGGGGGCCAGGGACCCTCGTCACCGTCTCGAGCGCCTC
CACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGG
GGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGA
CGGTGTCGTGGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCT
GTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCC
AGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAA
CACCAAGGTGGACGCGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTACTAG
(配列番号 4 1 0)。

10

【0 6 6 6】

20

本発明のさらなる一実施形態では、NGFとの結合特異性を有するFab抗体フラグメントをコードするポリヌクレオチドは、配列番号51の軽鎖可変配列の相補性決定領域(CDR、または超可変領域)をコードするポリヌクレオチドに対応する配列番号255、配列番号256および配列番号257のポリヌクレオチド配列、または配列番号409の軽鎖配列のうちの1つ以上を含む。

【0 6 6 7】

本発明のさらなる一実施形態では、NGFとの結合特異性を有するFab抗体フラグメントをコードするポリヌクレオチドは、配列番号53の重鎖可変配列の相補性決定領域(CDR、または超可変領域)をコードするポリヌクレオチドに対応する配列番号258、配列番号259および配列番号260のポリヌクレオチド配列、または配列番号410の重鎖配列のうちの1つ以上を含む。

30

【0 6 6 8】

本発明は、本明細書中に記載される抗体フラグメントをコードするポリヌクレオチド配列のうちの1つ以上を包含するポリヌクレオチド配列も企図する。本発明の一実施形態では、NGFとの結合特異性を有する抗体フラグメントをコードするポリヌクレオチドは、抗体フラグメントをコードする以下のポリヌクレオチドのすべてを含めて、1、2、3またはそれ以上を含むか、代替的にはそれらで構成される：配列番号51の軽鎖可変配列をコードするポリヌクレオチド配列場251；配列番号407の軽鎖配列をコードするポリヌクレオチド配列番号409；配列番号53の重鎖可変配列をコードするポリヌクレオチド配列場253；配列番号408の重鎖配列をコードするポリヌクレオチド配列番号410；配列番号51の軽鎖可変配列の相補性決定領域(配列番号255、配列番号256、および配列番号257)または配列番号407の軽鎖配列をコードするポリヌクレオチド；ならびに配列番号53の重鎖可変配列の相補性決定領域(配列番号258、配列番号259、および配列番号260)、または配列番号408の重鎖配列をコードするポリヌクレオチド。

40

【0 6 6 9】

本発明の好ましい一実施形態では、本発明のポリヌクレオチドは、NGFに関する結合特異性を有するFab(断片抗原結合)をコードするポリヌクレオチドを含むか、代替的にはそれらで構成される。抗体フラグメントFab2に関しては、Fab断片をコードするポリヌクレオチドは、配列番号407の軽鎖配列をコードするポリヌクレオチド配列場

50

409、ならびに配列番号408の重鎖配列をコードするポリヌクレオチド配列番号410を包含する。

【0670】

本発明の別の実施形態は、CHO、NSOまたはHEK-293のような哺乳類細胞における、または真菌、昆虫、植物、動物または微生物系、例えば細菌または酵母細胞、例えば、ピキア属酵母における発現のための発現ベクター中に組み入れられるこれらのポリヌクレオチドを企図する。適切なピキア種としてはピキア・パストリス (*Pichia pastoris*) が挙げられるが、これに限定されない。本明細書中に記載される(下記)本発明の一実施形態では、Fab断片は、CHO、NSOまたはHEK293細胞のような哺乳類細胞、真菌、昆虫、植物、動物または微生物系、例えば酵母細胞(例えば、二倍体酵母、例えば二倍体ピキア属)および他の酵母系統におけるFab2ポリヌクレオチドの発現により産生され得る。適切なピキア種としてはピキア・パストリス (*Pichia pastoris*) が挙げられるが、これに限定されない。

10

【0671】

一実施形態では、本発明は、配列番号3、13、23、33、43、53、63、73、83、93、103、113、123、133、143、153、163、173、183、193または402から選択される抗NGF V_H抗体アミノ酸配列をコードする、あるいはその変異体をコードするポリヌクレオチドを含む単離ポリヌクレオチドに関するが、この場合、少なくとも1つのフレームワーク残基(FR残基)は、ウサギ抗NGF抗体V_Hポリペプチドにおける対応する位置に存在するアミノ酸で置換されているか、あるいは保存的アミノ酸置換で置換されている。

20

【0672】

別の実施形態では、本発明は、1、11、21、31、41、51、61、71、81、91、101、111、121、131、141、151、161、171、181、191または401の抗NGF V_L抗体アミノ酸配列をコードする、あるいはその変異体をコードするポリヌクレオチド配列を含む単離ポリヌクレオチドに関するが、この場合、少なくとも1つのフレームワーク残基(FR残基)が、ウサギ抗NGF抗体V_Lポリペプチドにおける対応する位置に存在するアミノ酸で置換されているか、あるいは保存的アミノ酸置換で置換されている。

【0673】

さらに別の実施形態では、本発明は、配列番号1および配列番号3；配列番号：11および配列番号13；配列番号21および配列番号23；配列番号31および配列番号33；配列番号41および配列番号43；配列番号51および配列番号53、配列番号61および配列番号63；配列番号71および配列番号73；配列番号81および配列番号83；配列番号91および配列番号93；配列番号101および配列番号103；配列番号111および配列番号113；配列番号121および配列番号123；配列番号131および配列番号133；配列番号141および配列番号143；配列番号151および配列番号153；配列番号161および配列番号163；配列番号171および配列番号173；配列番号181および配列番号183；配列番号191および配列番号193；または配列番号401および配列番号403に含有されるポリペプチドをコードする配列を含む1つ以上の異種ポリヌクレオチドに関する。

30

40

【0674】

別の実施形態では、本発明は、抗NGF抗体に由来する少なくとも1つのCDRポリペプチドを含有するポリペプチドを発現する単離ポリヌクレオチドに関するが、この場合、上記の発現ポリペプチドは、単独で、NGFを特異的に結合するか、または、抗NGF抗体に由来する少なくとも1つのCDRポリペプチドを含有するポリペプチドを発現する別のポリヌクレオチド配列と関連して発現される場合、NGFを特異的に結合し、この場合、上記の少なくとも1つのCDRは、配列番号1、3、11、13、21、23、31、33、41、43、51、53、61、63、71、73、81、83、91、93、101、103、111、113、121、123、131、133、141、143、1

50

51、153、161、163、171、173、181、183、191、193、401または配列番号403のV_LまたはV_Hポリペプチド中に含有されるものから選択される。

【0675】

上記のポリヌクレオチドを含む宿主細胞およびベクターも、企図される。

【0676】

本発明はさらに、本明細書中に記述されるような可変重鎖および軽鎖ポリペプチド配列、ならびに個々の相補性決定領域（CDR、または超可変領域）をコードするポリヌクレオチドを含むベクター、ならびに上記ベクター配列を含む宿主細胞を企図する。本発明の一実施形態では、宿主細胞は酵母細胞である。本発明の別の実施形態では、酵母宿主細胞はピキア属に属する。

10

抗NGF活性

【0677】

NGFとの結合特異性を有する本発明の抗NGF抗体およびその断片の抗NGF活性も、NGFに関するそれらの結合強度またはそれらの親和性により記載され得る。本発明の一実施形態では、NGFとの結合特異性を有する本発明の抗NGF抗体およびその断片は、 5×10^{-7} M、 10^{-7} M、 5×10^{-8} M、 10^{-8} M、 5×10^{-9} M、 10^{-9} M、 5×10^{-10} M、 10^{-10} M、 5×10^{-11} M、 10^{-11} M、 5×10^{-12} M、 10^{-12} M、 5×10^{-13} Mまたは 10^{-13} Mより低いかまたは等しい解離定数（K_D）で、NGFと結合する。好ましくは、抗NGF抗体およびその断片は、 5×10^{-10} M以下の解離定数でNGFを結合する。本発明の別の実施形態では、NGFとの結合特異性を有する本発明の抗NGF抗体およびその断片は、線状または立体配座NGFエピトープと結合する。

20

【0678】

本発明の別の実施形態では、NGFとの結合特異性を有する本発明の抗NGF抗体およびその断片は、 10^{-4} S⁻¹、 5×10^{-5} S⁻¹、 10^{-5} S⁻¹、 5×10^{-6} S⁻¹、 10^{-6} S⁻¹、 5×10^{-7} S⁻¹または 10^{-7} S⁻¹より低いかまたは等しいオフ・レートでNGFと結合する。

【0679】

本発明のさらなる一実施形態では、NGFとの結合特異性を有する本発明の抗NGF抗体およびその断片の抗NGF活性は、NGFに関連した疾患および障害の徴候を防止し、改善し、または低減するか、代替的には処置することにより、抗NGF活性を示す。NGFに関連した疾患および障害の非限定例は、以下で記述される。

30

B細胞スクリーニングおよび単離

【0680】

一実施形態では、本発明は、所望のNGF抗原に特異的であるNGFに対するモノクローナル抗体、またはこのような抗体に対応する核酸配列を産生するために用いられ得る少なくとも1つのNGF抗原特異的細胞を単離するために用いられ得る抗原特異的B細胞のクローン集団の調製および単離を企図する。抗原特異的B細胞の上記クローン集団を調製し、単離する方法は、例えば米国特許公開番号US2007/0269868（Carvalho-Jensen等）（この記載内容は参照により本明細書中で援用される）に教示されている。抗原特異的B細胞の上記クローン集団を調製し、単離する方法は、本明細書中でも実施例で教示される。サイズまたは密度により細胞集団を「濃化する」方法は、当該技術分野で既知である。例えば米国特許第5,627,052号を参照されたい。これらのステップは、抗原特異性により細胞集団を濃化することに加えて、用いられ得る。

40

抗体のヒト化方法

【0681】

別の実施形態では、本発明は、抗体重鎖および軽鎖をヒト化するための方法を企図する。抗NGF抗体に適用され得る抗体重鎖および軽鎖をヒト化するための方法は、例えば米国特許出願公開番号2009/0022659（Olson等）に、そして米国特許出願公開

50

番号 2009/0028784 (Garcia-Martinez等) に教示されている (これらの記載内容は各々、参照により本明細書中で援用される)。

抗体およびその断片の産生方法

【0682】

別の実施形態では、本発明は、抗NGF抗体およびその断片を産生するための方法を企図する。交配可能な酵母の多倍数体、好ましくは二倍体または四倍体株から分泌される抗NGF抗体およびその断片を産生するための方法は、例えば米国特許出願公開番号2009/0022659 (Olson等) に、そして米国特許出願公開番号2009/0028784 (Garcia-Martinez等) に教示されている (これらの記載内容は各々、参照により本明細書中で援用される)。

10

【0683】

抗体のその他の産生方法は、当業者に周知である。例えば、キメラ抗体の産生方法は、目下、当該技術分野で周知である (米国特許第4,816,567号 (Cabilly等) ; Morrison et al., P.N.A.S. USA, 81:8651-55 (1984) ; Neuberger, M.S. et al., Nature, 314:268-270 (1985) ; Boulianne, G.L. et al., Nature, 312:643-46 (1984)) (これらの記載内容は各々、参照により本明細書中で援用される)。

【0684】

同様に、ヒト化抗体の他の産生方法は、目下、当該技術分野で周知である (例えば、米国特許第5,530,101号、第5,585,089号、第5,693,762号および第6,180,370号 (Queen等) ; 米国特許第5,225,539号および第6,548,640号 (Winter) ; 米国特許第6,054,297号、第6,407,213号および第6,639,055号 (Carter等) ; 米国特許第6,632,927号 (Adair) ; Jones, P.T. et al, Nature, 321:522-525 (1986) ; Reichmann, L., et al, Nature, 332:323-327 (1988) ; Verhoeyen, M, et al, Science, 239:1534-36 (1988) 参照) (これらの記載内容は各々、参照により本明細書中で援用される)。

20

【0685】

NGF結合特異性を有する本発明の抗体ポリペプチドは、当業者に周知の慣用的技法を用いて、オペロン、ならびに抗体重鎖をコードするDNA配列を含有する発現ベクターを構築することによっても産生され得るが、この場合、抗体特異性のために必要とされるCDRをコードするDNA配列は、非ヒト細胞供給源、好ましくはウサギB細胞供給源に由来し、一方、抗体鎖の残りの部分をコードするDNA配列は、ヒト細胞供給源に由来する。

30

【0686】

第二の発現ベクターは、当業者に周知の同一の慣用的手段、オペロンならびに抗体軽鎖をコードするDNA配列を含有する上記発現ベクターを用いて産生されるが、この場合、抗体特異性のために必要とされるCDRをコードするDNA配列は、非ヒト細胞供給源、好ましくはウサギB細胞供給源に由来し、一方、抗体鎖の残りの部分をコードするDNA配列は、ヒト細胞供給源に由来する。

【0687】

発現ベクターは、当業者に周知の慣用的技法により宿主細胞中にトランスフェクトされて、トランスフェクト化宿主細胞を産生し、上記トランスフェクト化宿主細胞は、当業者に周知の慣用的技法により培養されて、上記抗体ポリペプチドを産生する。

40

【0688】

宿主細胞は、上記の2つの発現ベクター、すなわち、オペロンおよび軽鎖由来ポリペプチドをコードするDNAを含有する第一発現ベクターと、オペロンおよび重鎖由来ポリペプチドをコードするDNAを含有する第二ベクターで同時トランスフェクトされ得る。2つのベクターは異なる選択可能マーカーを含有するが、しかし好ましくは、重鎖および軽鎖ポリペプチドの実質的に等しい発現を達成する。代替的には、重鎖および軽鎖ポリペプチドの両方をコードするDNAを含む単一ベクターが用いられ得る。重鎖および軽鎖に関するコード配列は、cDNA、ゲノムDNAまたは両方を含み得る。

50

【0689】

抗体ポリペプチドを発現するために用いられる宿主細胞は、細菌細胞、例えば大腸菌、または真核生物細胞であり得る。本発明の特に好ましい一実施形態では、この目的のために明確に定義された型の哺乳類細胞、例えば骨髓腫細胞、チャイニーズハムスター卵巣（CHO）細胞株、NSO細胞株またはHEK293細胞株が用いられ得る。

【0690】

ベクターが構築され得る一般的方法、宿主細胞を産生するために必要とされるトランスフェクション方法、ならびに上記宿主細胞から抗体ポリペプチドを産生するために必要とされる培養方法はすべて、慣用的技法を包含する。好ましくは、抗体を産生するために用いられる細胞株は哺乳類細胞株であるが、しかし任意の他の適切な細胞株、例えば細菌細胞株、例えば大腸菌由来細菌系統または酵母細胞株が代替的に用いられ得る。

10

【0691】

同様に、一旦産生されると、抗体ポリペプチドは、当該技術分野における標準手法に従って、例えばクロスフロー濾過、硫酸アンモニウム沈澱、アフィニティーカラムクロマトグラフィー等により、精製され得る。

【0692】

本明細書中に記載される抗体ポリペプチドは、本発明の抗体ポリペプチドと同一の治療用途のために有用であるペプチドまたは非ペプチド模倣物の設計および合成のためにも用いられ得る。例えば、Saragobi et al, Science, 253: 792-795 (1991)（この記載内容は参照により本明細書中で援用される）参照。

20

スクリーニング検定

【0693】

本発明は、NGF関連疾患または障害の徴候を示す患者におけるNGFと関連づけられる疾患および障害の同定を手助けするために設計されるスクリーニング検定も包含する。

【0694】

本発明の一実施形態では、本発明の抗NGF抗体またはそのNGF結合断片は、NGFに関連する疾患または障害の徴候を示す患者から得られる生物学的試料中のNGFの存在を検出するために用いられる。NGFの存在、または匹敵する生物学的試料中のNGFの前疾患レベルと比較した場合のそのレベル上昇は、NGFに関連する疾患または障害を診断するのに有益であり得る。

30

【0695】

本発明の別の実施形態は、本明細書中で同定されるNGF関連疾患または障害の徴候を示す患者におけるNGFに関連する疾患または障害の診断を手助けするための診断またはスクリーニング検定であって、翻訳後修飾抗NGF抗体またはその結合断片を用いて上記患者からの生物学的試料におけるNGF発現のレベルを検定することを包含する検定を提供する。抗NGF抗体またはその結合断片は、本開示中で前述したような検出可能部分を包含するよう翻訳後修飾され得る。

【0696】

生物学的試料中のNGFレベルは、本明細書中に記述されるような修飾抗NGF抗体またはその結合断片を用いて確定されて、NGFの標準レベル（例えば、正常生物学的試料におけるレベル）に対する当該生物学的試料中のNGFのレベルを比較する。多少の変異性が正常生物学的試料間に存在し得る、と熟練臨床医は理解し、そして結果を評価する場合に考慮に入れる。本発明の一実施形態では、本発明の抗NGF抗体は、癌性発症の特定段階に伴ってNGF発現レベルを補正するために用いられ得る。癌性発症の臨床的に限定される段階に対応するNGF発現の範囲を確立するために、多数の被験体におけるNGFを、当業者は測定することができる。これらの範囲は、癌と診断される被験体におけるNGFを熟練開業医が測定できるようにして、各被験体におけるレベルを上記癌の段階に対応する範囲と相関させる。異なる間隔で患者におけるNGFを測定することにより、癌の進行が確定され得る。

40

【0697】

50

上記検定は疾患または障害をモニタリングするのにも有用であり得るが、この場合、上記患者におけるNGFレベルが、例えば処置レジメンに伴って変化したか否かを確証するために、NGF関連疾患または障害を有すると考えられる患者からの生物学的試料中で得られるNGFのレベルは、同一患者からの以前の生物学的試料中のNGFのレベルと比較される。

【0698】

本発明は、NGFを発現する細胞の存在を検出するin vivo画像処理方法であって、診断的有効量の診断用組成物を投与することを包含する方法に関する。上記in vivo画像処理は、例えばNGF発現腫瘍または転移の検出または画像処理のために有用であり、そして有効な癌処置プロトコルの設計のための立案レジメンの一部として有用であり得る。処置プロトコルとしては、例えば放射線照射、化学療法、サイトカイン療法、遺伝子療法および抗体療法、ならびに抗NGF抗体またはその断片のうちの1つ以上が挙げられ得る。

10

【0699】

本発明はさらに、本発明の抗NGF抗体とNGFとの結合を検出するためのキットを提供する。特に、当該キットは、本発明の抗NGF抗体またはその免疫反応性断片と特異的に反応性であるNGFの存在を検出するために用いられ得る。当該キットは、基質に結合される抗体、抗原と反応性である二次抗体、ならびに二次抗体と抗原の反応を検出するための試薬も包含し得る。このようなキットはELISAキットであり得るし、適切な場合には、基質、第一および第二抗体、そして任意の他の必要な試薬、例えば検出可能部分、例えば本明細書中に記載されるような酵素基質および着色試薬を含み得る。診断用キットは、免疫ブロットキットの形態でもあり得る。

20

【0700】

生物学的試料としては血清、血漿、尿、唾液、粘液、胸水、滑液および脊髄液が挙げられるが、これらに限定されない、と熟練臨床医は理解する。

NGFに関連する疾患および障害の徴候を改善するかまたは低減する方法、あるいはそれらの疾患および障害を処置するかまたは防止する方法

【0701】

本発明の別の実施形態では、本明細書中に記載される抗NGF抗体またはその断片は、NGFに関連する疾患および障害の徴候を改善するかまたは低減するために、あるいはそれらの疾患および障害を処置するかまたは防止するために有用である。本明細書中に記載される抗NGF抗体またはその断片ならびに組合せは、さらにまた、以下でさらに詳細に記載されるような薬学的組成物の形態で、NGFに関連する疾患および障害の処置を必要とする患者に治療的有效量で投与され得る。

30

【0702】

本発明の好ましい一実施形態では、Fab断片が患者における疼痛の処置のために利用される。

【0703】

本発明の別の実施形態では、1つ以上の抗NGF一価作因は、個体における炎症を実質的に引き起こすことなく、上記個体における疼痛の徴候を改善するかまたは低減する方法、あるいは疼痛を処置するかまたは防止する方法に有用である。疼痛の例は、以下で記述される。

40

【0704】

本発明の一実施形態では、本明細書中に記載される抗NGF抗体またはその断片、および／または二次作因は、以下に列挙される疾患および障害（これらに限定されない）の徴候を改善するかまたは低減するために、あるいはそれらの疾患および障害を処置するかまたは防止するために有用である：炎症性疼痛、切開手術後疼痛、複合性局所疼痛症候群、癌疼痛（特に原発性または転移性骨癌疼痛）、骨折痛、骨粗鬆症性骨折痛、熱傷に起因する疼痛、骨粗鬆症、痛風関節痛、鎌状赤血球症発症に関連した疼痛およびその他の侵害受容性疼痛、ならびに肝細胞癌、乳癌、肝硬変。

50

【0705】

本発明の別の実施形態では、本明細書中に記載される抗NGF抗体またはその断片、および／または二次作因は、以下に列挙される疾患および障害（これらに限定されない）の徴候を改善するかまたは低減するために、あるいはそれらの疾患および障害を処置するかまたは防止するために有用である：神経原性、神経障害性または侵害受容性疼痛。神経障害性疼痛としては、三叉神経痛、ヘルペス感染後神経痛、幻肢痛、繊維筋痛、月経痛、卵巣痛、反射性交感神経性ジストロフィーおよび神経原性疼痛が挙げられ得るが、これらに限定されない。他の好ましい実施形態では、骨関節炎または関節リウマチ疼痛、腰痛、糖尿病性神経障害、坐骨神経痛、片頭痛およびその他の神経障害性疼痛。

【0706】

本発明の別の実施形態では、炎症を引き起こさないものを含めて、抗体および断片、特に一価断片を含む対象NGFアンタゴニストは、個体における疼痛の徴候を改善するかまたは低減する、あるいは疼痛を処置するかまたは防止する方法において有用である。処置可能である疼痛症状の例は、以下で記述される。

【0707】

本発明の一実施形態では、炎症を引き起こさないものを含めて、開示NGF抗体および断片、特に二価および一価断片を含む対象NGFアンタゴニストは、単独で、および／または二次作因を伴って、疾患および障害の下記の一覧（これらに限定されない）の徴候を改善するかまたは低減する、疾患および障害を処置するかまたは防止するために有用である：炎症性疼痛、切開手術後疼痛、複合性局所疼痛症候群、癌疼痛（特に原発性または転移性骨癌疼痛）、骨折痛、骨粗鬆症性骨折痛、熱傷に起因する疼痛、骨粗鬆症、痛風関節痛、鎌状赤血球症発症に関連する疼痛およびその他の侵害受容性疼痛、ならびに肝細胞癌、乳癌、肝硬変。

【0708】

本発明の別の実施形態では、炎症を引き起こさないものを含めて、開示NGF抗体および断片、特に二価および一価断片を含む対象NGFアンタゴニストは、単独で、または他の活性作因を伴って、以下に列挙される疾患および障害（これらに限定されない）の徴候を改善するかまたは低減するために、あるいはそれらの疾患および障害を処置するかまたは防止するために有用である：神経原性、神経障害性または侵害受容性疼痛。神経障害性疼痛としては、三叉神経痛、ヘルペス感染後神経痛、幻肢痛、繊維筋痛、月経痛、卵巣痛、反射性交感神経性ジストロフィーおよび神経原性疼痛が挙げられ得るが、これらに限定されない。他の好ましい実施形態では、骨関節炎または関節リウマチ疼痛、腰痛、糖尿病性神経障害、坐骨神経痛、片頭痛およびその他の神経障害性疼痛。

【0709】

概して、炎症を引き起こさないものを含めて、開示NGF抗体および断片、特に二価および一価断片を含む対象NGFアンタゴニストは、単独で、および／または第二作因を伴って、以下に列挙される疾患および障害（これらに限定されない）の徴候を改善するかまたは低減するために、あるいはそれらの疾患および障害を処置するかまたは防止するために有用であって、この場合、当該症状は、急性疼痛、歯痛、外傷による疼痛、外科的疼痛、切断または膿瘍に起因する疼痛、灼熱痛、脱髄性疾患、三叉神経痛、癌、慢性アルコール中毒、卒中、視床痛症候群、糖尿病、後天性免疫不全症候群（「AIDS」）、毒素、化学療法、一般的頭痛、片頭痛、群発性頭痛、混合型血管または非血管性症候群、緊張型頭痛、全身性炎症、関節炎、リウマチ性疾患、狼瘡、骨関節炎、繊維筋痛、炎症性腸障害、過敏性腸症候群、炎症性眼障害、炎症性または不安定性膀胱障害、乾癬、炎症性成分を伴う皮膚愁訴、日焼け、心臓炎、皮膚炎、筋炎、神経炎、膠原血管病、慢性炎症性症状、炎症性疼痛ならびに関連の痛覚過敏症および異痛症、神経障害性疼痛ならびに関連の痛覚過敏症または異痛症、糖尿病性神経障害性疼痛、灼熱痛、交感神経的保持性疼痛、求心路遮断症候群、喘息、上皮組織傷害または機能不全、単純ヘルペス、呼吸器、泌尿生殖器、消化器または血管領域での内臓運動の攪乱、創傷、熱傷、アレルギー性皮膚反応、心因性掻痒、白斑、一般的胃腸障害、結腸炎、胃潰瘍、十二指腸潰瘍、血管運動性またはアレルギー

10

20

30

40

50

ギー性鼻炎、または気管支障害、月経困難、消化不良、逆流性食道炎、膵炎または内臓痛である。

【0710】

単独で、および／または第二作因とともに、炎症を引き起こさないものを含めて、開示 N G F 抗体および断片、特に二価および一価断片を含む対象 N G F アンタゴニストで処置可能であるかまたは防止可能である「N G F 媒介性疾患」および「N G F 媒介性症状」という用語は、N G F のレベル増大または N G F に対する感受性増大と関連づけられる任意の医学的症状または障害、例えば急性疼痛、歯痛、外傷による疼痛、外科的疼痛、切断または膿瘍に起因する疼痛、灼熱痛、脱髄性疾患、三叉神経痛、癌、慢性アルコール中毒、卒中、視床痛症候群、糖尿病、後天性免疫不全症候群（「A I D S」）、毒素および化学療法、一般的頭痛、片頭痛、群発性頭痛、混合型血管または非血管性症候群、緊張型頭痛、全身性炎症、関節炎、リウマチ性疾患、狼瘡、骨関節炎、繊維筋痛、炎症性腸障害、過敏性腸症候群、炎症性眼障害、炎症性または不安定性膀胱障害、乾癬、炎症性成分を伴う皮膚愁訴、日焼け、心臓炎、皮膚炎、筋炎、神経炎、膠原血管病、慢性炎症性症状、炎症性疼痛ならびに関連の痛覚過敏症および異痛症、神経障害性疼痛ならびに関連の痛覚過敏症または異痛症、糖尿病性神経障害性疼痛、灼熱痛、交感神経的保持性疼痛、求心路遮断症候群、喘息、上皮組織傷害または機能不全、単純ヘルペス、呼吸器、泌尿生殖器、消化器または血管領域での内臓運動の攪乱、創傷、熱傷、アレルギー性皮膚反応、心因性掻痒、白斑、一般的胃腸障害、結腸炎、胃潰瘍、十二指腸潰瘍、血管運動性またはアレルギー性鼻炎、または気管支障害、月経困難、消化不良、逆流性食道炎、膵炎および内臓痛（これらに限定されない）を広範に包含する。

投与

【0711】

本発明の一実施形態では、本明細書中に記載される抗 N G F 抗体またはその N G F 結合断片ならびに上記抗体または抗体フラグメントの組合せは、約 0.1 ~ 100.0 mg / レシピエント被験体の体重 1 kg の濃度で、被験体に投与される。本発明の好ましい一実施形態では、本明細書中に記載される抗 N G F 抗体またはその N G F 結合断片ならびに上記抗体または抗体フラグメントの組合せは、約 0.4 mg / レシピエント被験体の体重 1 kg の濃度で、被験体に投与される。本発明の好ましい一実施形態では、本明細書中に記載される抗 N G F 抗体またはその N G F 結合断片ならびに上記抗体または抗体フラグメントの組合せは、26 週間またはそれ未満毎に 1 回、例えば 16 週間またはそれ未満毎に 1 回、8 週間またはそれ未満毎に 1 回、4 週間またはそれ未満毎に 1 回、2 週間またはそれ未満毎に 1 回、毎週またはそれ未満で 1 回、1 日またはそれ未満に 1 回の頻度で、レシピエント被験体に投与される。

【0712】

F a b 断片は、2 週間またはそれ未満毎に、毎週またはそれ未満で、1 日またはそれ未満で 1 回、多数回 / 日、および／または数時間毎に投与され得る。本発明の一実施形態では、患者は、所望の結果を得るために有効な、1 日 1 ~ 6 回の分割用量投与で、または徐放性形態で投与される 0.01 mg / kg ~ 40 mg / kg / 日の F a b 断片を摂取する。

【0713】

所定の患者に投与される抗体または F a b の濃度は、上記の例示的投与濃度より高いかまたは低いことがある、と理解されるべきである。

【0714】

例えば、本明細書中の開示により、そして Goodman, L. S., Gilman, A., Brunton, L. L., Lazo, J. S., & Parker, K. L. (2006). Goodman & Gilman's the pharmacological basis of therapeutics. New York: McGraw-Hill; Howland, R. D., Mycek, M. J., Harvey, R. A., Champe, P. C., & Mycek, M. J. (2006). Pharmacology. Lippincott's illustrated reviews. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; および Golan, D. E. (2008). Principles of pharmacology: the pathophysiologic basis of drug therapy.

Philadelphia, Pa., [etc.]: Lippincott Williams & Wilkinsにおける教示により導かれる慣例の実験を通して、有効投与量および投与頻度を当業者は決定することができる。

【0715】

本発明の別の実施形態では、本明細書中に記載される抗NGF抗体またはそのNGF結合断片ならびに上記抗体または抗体フラグメントの組合せは、薬学的処方物中で被験体に投与される。

【0716】

「薬学的組成物」は、哺乳動物への投与に適した化学的または生物学的組成物を指す。このような組成物は、具体的には、多数の経路、例えば頬、皮膚上、硬膜外、吸入、動脈内、心臓内、脳室内、皮内、筋肉内、鼻内、眼内、腹腔内、脊髄内、くも膜下腔内、静脈内、経口、非経口、浣腸または坐薬により直腸的に、皮下、真皮下、舌下、経皮および経筋肉経路のうちの1つ以上を介した投与のために処方され得る。さらに、投与は、注射、粉末、液体、ゲル、滴下により、または他の投与手段により行なわれ得る。

【0717】

本発明の一実施形態では、本明細書中に記載される抗NGF抗体またはそのNGF結合断片ならびに上記抗体または抗体フラグメントの組合せは、任意に、1つ以上の活性作用物質と組合せて投与され得る。このような活性作用物質としては、鎮痛薬、抗ヒスタミン薬、解熱薬、抗炎症薬、抗生物質、抗ウイルス薬および抗サイトカイン薬が挙げられる。活性作用物質は、TNF- α 、IL-2、IL-4、IL-6、IL-10、IL-12、IL-13、IL-18、IFN- α 、IFN- γ 、BAFF、CXCL13、IP-10、VEGF、EPO、EGF、HRG、肝細胞増殖因子(HGF)、ヘプシジンのアゴニスト、アンタゴニストおよびモジュレーター、例えば前記のいずれかに対して反応性の抗体、ならびにそれらの受容体のいずれかに対して反応性の抗体を包含する。活性作用物質としては、2-アリールプロピオン酸、アセクロフェナク、アセメタシン、アセチルサリチル酸(アスピリン)、アルクロフェナク、アルミノプロフェン、アモキシプリン、アンピロン、アリールアルカン酸、アザプロバゾン、ベノリレート(Benorylate/Benorilate)、ベノキサプロフェン、ブロムフェナク、カルプロフェン、セレコキシブ、サリチル酸コリンマグネシウム、クロフェゾン、COX-2阻害薬、デキシブプロフェン、デクスケトプロフェン、ジクロフェナク、ジフルニサル、ドロキシカム、エテンザミド、エトドラク、エトリコキシブ、ファイスラミン、フェナム酸、フェンブフェン、フェノプロフェン、フルフェナム酸、フルノキサプロフェン、フルルビプロフェン、イブプロフェン、イブプロキサム、インドメタシン、インドプロフェン、ケブゾン、ケトプロフェン、ケトロラク、ロルノキシカム、ロキソプロフェン、ルミラコキシブ、サリチル酸マグネシウム、メクロフェナム酸、メフェナム酸、メロキシカム、メタミゾール、サリチル酸メチル、モフェブタゾン、ナブメトン、ナプロキセン、N-アリールアントラニル酸、神経成長因子(NGF)、オキサメタシン、オキサプロジン、オキシカム、オキシフェンブタゾン、パレコキシブ、フェナゾン、フェニルブタゾン、フェニルブタゾン、ピロキシカム、ピルプロフェン、プロフェン、プログルメタシン、ピラゾリジン誘導体、ロフェコキシブ、サリチルサリチル酸塩、サリチルアミド、サリチル酸塩、スルフィニピラゾン、スリンダク、スプロフェン、テノキシカム、チアプロフェン酸、トルフェナム酸、トルメチンおよびバルデコキシブも挙げられるが、これらに限定されない。

【0718】

抗ヒスタミン薬は、ヒスタミンの作用または細胞(例えば肥満細胞)からのその放出を妨害する任意の化合物であり得る。抗ヒスタミン薬としては、アクリバスチン、アステミゾール、アザタジン、アゼラスチン、ベータタスチン、ブロムフェニラミン、ブクリジン、セチリジン、セチリジン類似体、クロルフェニラミン、クレマスチン、CS 560、シプロヘブタジン、デスロラタジン、デクスクロルフェニラミン、エバスチン、エピナスチン、フェキソフェナジン、HSR 609、ヒドロキシジン、レボカバスチン、ロラチジン、メトスコポラミン、ミゾラスチン、ノルアステミゾール、フェニндаミン、プロメタジン、ピリラミン、テルフェナジンおよびトラニラストが挙げられるが、これらに限定

10

20

30

40

50

されない。

【0719】

抗生物質としては、アミカシン、アミノグリコシド、アモキシシリン、アンピシリン、アンサマイシン、アルスフェナミン、アジトロマイシン、アズロシリン、アズトレオナム、バシトラシン、カルバセフェム、カルバペネム、カルベニシリン、セファクロル、セファドロキシル、セファレキシン、セファロチン、セファロチン、セファマンドール、セファゾリン、セフジニル、セフジトレン、セフェピメ、セフィキシム、セフォペラゾン、セフォタキシム、セフォキシチン、セフポドキシム、セフプロジル、セフタジジム、セフチブテン、セフチゾキシム、セフトピプロール、セフトリアキソン、セフロキシム、セファロスポリン、クロラムフェニコール、シラスタチン、シプロフロキサシン、クラリトロマイシン、クリンダマイシン、クロキサシリン、コリスチン、コトリモキサゾール、ダルフォプリスチン、デメクロサイクリン、ジクロキサシリン、ジリトロマイシン、ドリベネム、ドキシサイクリン、エノキサシン、エラタベネム、エリスロマイシン、エタムブトール、フルクロキサシリン、フォスフォマイシン、フラゾリドン、フシジン酸、ガチフロキサシン、ゲルダナマイシン、ゲンタマイシン、グリコペプチド、ヘルビマイシン、イミペネム、イソにアジド、カナマイシン、レボフロキサシン、リンコマイシン、リネゾリド、ロメフロキサシン、ロラカルベフ、マクロライド、マフェニド、メロペネム、メチシリン、メトロニダゾール、メズロシリン、ミノサイクリン、モノバクタム、モキシフロキサシン、ムピロシン、ナフリシン、ネオマイシン、ネチルミシン、ニトロフラントイン、ノルフ

10

20

【0720】

活性作用物質としては、アルドステロン、ベクロメタゾン、ベタメタゾン、コルチコステロイド、コルチゾール、酢酸コルチゾン、酢酸デオキシコルチコステロン、デキサメタゾン、酢酸フルドロコルチゾン、グルココルチコイド、ヒドロコルチコイド、メチルプレドニソロン、プレドニソロン、プレドニソン、ステロイドおよびトリアムシノロンも挙げられる。これらの活性作用物質の任意の適切な組合せも企図される。

30

【0721】

「薬学的賦形剤」または「製薬上許容可能な賦形剤」は、担体、通常は、活性治療薬がその中に処方される液体である。本発明の一実施形態では、活性治療薬は、本明細書中に記載されるヒト化抗体または1つ以上のその断片である。賦形剤は、一般的には、処方物に如何なる薬理学的活性も提供しないが、しかしそれは化学的および／または生物学的安定性ならびに放出特質を提供し得る。例示的処方物は、例えばRemington's Pharmaceutical Sciences, 19th Ed., Grennaro, A., Ed., 1995（この記載内容は参照により本明細書中で援用される）に見出され得る。

40

【0722】

本明細書中で用いる場合、「製薬上許容可能な担体」または「賦形剤」は、生理学的に適合性である任意のおよびすべての溶媒、分散媒質、コーティング、抗細菌および抗真菌剤、等張および吸収遅延剤を包含する。一実施形態では、担体は、非経口投与のために適している。代替的には、担体は、静脈内、腹腔内、筋肉内または舌下投与のために適切であり得る。製薬上許容可能な担体は、滅菌水溶液または分散液、ならびに滅菌注射用溶液または分散液の必要に応じた調製のための滅菌粉末を包含する。薬学的活性物質のためのこのような媒質および作用物質の使用は、当該技術分野で周知である。本発明の任意の慣

50

用的媒質または作用物質が活性化合物と非適合性である限りを除いて、本発明の薬学的組成物におけるその使用が企図される。補足的活性化合物も、当該組成物中に組み入れられ得る。

【0723】

薬学的組成物は、典型的には、製造および貯蔵の条件下で、滅菌性で且つ安定でなければならない。薬学的組成物は凍結乾燥形態で存在する、ということを本発明は企図する。組成物は、溶液、マイクロエマルジョン、リポソームまたは高薬剤濃度に適したその他の秩序構造物として処方され得る。担体は、例えば水、エタノール、ポリオール（例えばグリセロール、プロピレングリコールおよび液体ポリエチレングリコール）ならびにその適切な混合物を含有する溶媒または分散媒質であり得る。本発明はさらに、薬学的組成物中の安定化剤の包含を企図する。適正な流動性は、例えばレシチンのようなコーティングの使用により、分散液の場合には必要とされる粒子サイズの保持により、ならびに界面活性剤の使用により保持され得る。

10

【0724】

多くの場合、等張剤、例えば糖、多価アルコール、例えばマンニトール、ソルビトールまたは塩化ナトリウムを組成物中に含むことが好ましい。注射用組成物の吸収延長は、吸収を遅延する作用物質、例えばモノステアリン酸塩およびゼラチンを組成物中に包含することによりもたらされ得る。さらに、アルカリ性ポリペプチドは、徐放性処方物中に、例えば緩徐放出ポリマーを含む組成物中に処方され得る。活性化合物は、埋込み物およびマイクロカプセル封入送達系を含めた制御放出处方物のように、急速な放出に対して化合物を防護する担体をとともに調製され得る。生分解性の生体適合性ポリマー、例えばエチレンビニルアセテート、ポリ無水物、ポリグリコール酸、コラーゲン、ポリオルトエステル、ポリ乳酸およびポリ乳酸、ポリグリコール酸コポリマー（PLG）が用いられ得る。このような処方物を調製するための多数の方法が、当業者に既知である。

20

【0725】

列挙された実施形態の各々に関して、化合物は、種々の剤形で投与され得る。当業者に既知の任意の生物学的に許容可能な剤形およびその組合せが、企図される。このような剤形の例としては、再構成可能な粉末、エリキシル、液体、溶液、懸濁液、乳濁液、粉末、顆粒、粒子、微小粒子、分散性顆粒、カシェー剤、吸入剤、エーロゾル吸入剤、パッチ、粒状吸入剤、埋込み物、デポー剤、貯留埋込物、注射剤（例えば、皮下、筋肉内、静脈内および皮内）、注入、ならびにその組合せが挙げられるが、これらに限定されない。

30

【0726】

本発明の種々の例証実施形態の上記説明は、本発明を開示されたまさにその形態に対して網羅的であるかまたはそれに限定するよう企図されない。本発明の具体的実施形態および例が例証のために本明細書中に記載されているが、関連業界の当業者が理解するように、本発明の範囲内で種々の等価の修正が可能である。本明細書中で提供される教示は、上記の例以外の他の目的のために適用され得る。

【0727】

上記の詳細な説明にかんがみて、これらのおよびその他の変更が本発明に対してなされ得る。概して、以下の特許請求の範囲においては、用いられる用語は、本明細書ならびに特許請求の範囲に開示される具体的実施形態に本発明を限定すると解釈されるべきでない。したがって、本発明は開示内容に限定されないが、しかし代わりに、本発明の範囲は、以下の特許請求の範囲により完全に決定されるべきものである。

40

【0728】

本発明は、前記の説明および例に特定の記載されたもの以外の点で実行され得る。本発明の多数の修正および変更は、上記の教示にかんがみて可能であり、したがって、添付の特許請求の範囲の範囲内である。

【0729】

抗原特異的B細胞のクローン集団を得るための方法に関連したある教示は、米国特許仮出願第60/801,412号（2006年5月19日出願）（この記載内容は参照によ

50

り本明細書中で援用される)に開示された。

【0730】

ウサギ由来モノクローナル抗体のヒト化ならびに抗原結合親和性を保持するための好ましい配列修飾に関するある教示は、国際公開番号WO/2008/144757(表題:新規のウサギ抗体ヒト化方法およびヒト化ウサギ抗体(Novel Rabbit Antibody Humanization Methods and Humanized Rabbit Antibodies)(2008年5月21日出願)(この記載内容は参照により本明細書中で援用される)に対応する国際出願PCT/US2008/064421に開示された。

【0731】

交配可能な酵母を用いた抗体またはその断片の産生ならびに対応する方法に関するある教示は、米国特許出願第11/429,053号(2006年5月8日出願)(米国特許出願公開番号US2006/0270045)(この記載内容は参照により本明細書中で援用される)に開示された。

10

【0732】

あるNGF抗体ポリヌクレオチドおよびポリペプチドは、本特許出願ファイルに添付の配列表に開示されており、そして上記配列表の開示は、参照により本明細書中で援用される。

【0733】

本発明の「発明の背景」、「詳細な説明」および「実施例」で引用される各文書(例えば、特許、特許出願、季刊論文、要約、マニュアル、書籍またはその他の開示)の全開示内容は、参照により本明細書中で援用される。

20

【0734】

以下の実施例は、本発明の製造および使用方法についての完全な開示および記載を当業者に提供するために記述されるが、本発明とみなされるものの範囲を限定するものではない。用いられる数値(例えば、量、温度、濃度等)に関する精度を保証するために努力がなされてきたが、多少の実験の誤差および偏差は容認されるべきである。別記しない限り、部は重量部であり、分子量は平均分子量であり、温度は摂氏であり、そして圧力はほぼ大気圧である。

実施例

【0735】

実施例1:NGFと結合する抗体の調製

30

本明細書に記載の抗体選択プロトコルを用いて、広範な抗体のパネルを作製することができる。

【0736】

感作ストラテジー

ウサギをhuNGF(R&D Systems、Minneapolis、MN)で感作した。感作では、最初に完全 Freund アジュバント(CFA)(Sigma)で100μgの皮下(sc)注射を行い、次いで、2回の追加免疫を、不完全 Freund (IFA)(Sigma)でそれぞれ50μgの皮下(sc)注射により2週間間隔で行った。55日目にウサギから採血し、ELISA(抗原認識)およびT1165細胞系を用いた非放射性増殖アッセイ(Promega)により血清力価を決定した。

40

【0737】

抗体選択力価の評価

ヒトNGFと結合する抗体を特定し特徴づけるために、抗体を含有する溶液をELISAにより試験した。簡潔に述べれば、ニュートラアビジンでコートしたプレート(Thermo Scientific)を室温で1時間、ELISA緩衝液(0.1mg/mL BSA、1×PBS pH7.4、0.002%Tween20および0.005%アジ化ナトリウム)でブロックした。次いで、プレートを室温で1時間、ビオチン化B-NGFを1μg/mLでELISA緩衝液に溶かした溶液でコートした。次いで、洗浄段階(PBS+0.05%Tween20で3回)および2回目のELISA緩衝液によるブ

50

ロックを行った。次いで、組換え抗体をプレートに加え、室温で1時間インキュベートした後、PBS/Tween溶液で3回洗浄した。発色用に、抗ウサギFc-HRP (ELISA緩衝液で1:5000に希釈) をウェルに加え、室温で45分間インキュベートした。PBS/Tween溶液による3回の洗浄段階の後、TMB基質を用いて3分間、プレートを発色させ、0.5M HClを用いて停止させ、450nmで読み取った。

【0738】

機能力価の評価

NGF抗体がNGF依存性の細胞増殖を阻止する能力を試験するために、本発明者らはTF-1細胞を用いた (Chevalierら, Expression and functionality of the trkA proto-oncogene product/NGF receptor in undifferentiated hematopoietic cells. Blood (1994) vol. 83 (6) pp. 1479-85)。簡潔に述べれば、rhugM-CSFを添加した10% FBS cRPMI培地 (「完全培地」) でTF-1細胞を維持した。アッセイ当日に、抗体を丸底96ウェルプレート中、完全培地で連続希釈した。同時にB-NGF (R&D systems) を加え、得られた抗体/B-NGF混合物を37℃で1時間インキュベートした。AbとB-NGFの混合物をインキュベートしている間に、TF-1細胞を完全培地で3回洗浄して、計数し、1ウェル当たり体積50μL中25,000個の細胞で平底96ウェルプレートに播いた。1時間のインキュベーション後、NGF-抗体混合物を細胞に加え、プレートを加湿5%CO₂インキュベーター中、37℃で48時間インキュベートした。「CellTiter」aqueous one solution cell proliferation assay (Promega) を製造者の使用説明書に従って用い、細胞増殖を測定した。GraphPad Prismプログラムを用いて、シグナルの抗体濃度依存性を解析し、IC50値を算出した。

【0739】

組織採取

許容範囲内の力価が確認されてから、ウサギ (1つまたは複数) を屠殺した。脾臓、リンパ節および全血を採取し、以下のように処理した：

【0740】

脾臓およびリンパ節の組織を分離し、20ccシリンジのプランジャーで押しながら70μmの無菌ワイヤメッシュ (Fisher) に通して処理し、単細胞懸濁液にした。細胞をPBS中に収集した。細胞を遠心分離により2回洗浄した。最後の洗浄後に、細胞密度をトリパンブルーにより決定した。細胞を1500rpmで10分間遠心分離し、上清を捨てた。細胞を適当な体積の10%ジメチルスルホキシド (DMSO, Sigma) のFBS (Hyclone) 溶液中に再懸濁させ、1ml/バイアルで分注した。バイアルを緩慢凍結チャンバ内で24時間、-70℃で保管してから、液体窒素中で保管した。

【0741】

FBSを含まない等量の上記低グルコース培地と全血を混合することにより、末梢血単核球 (PBMCs) を単離した。45mlのコニカルチューブ (Corning) に入れたLympholyte Rabbit (Cedarlane) 8mlに全血混合物35mlを慎重に重層し、室温、2500rpmで30分間、ブレーキなしで遠心分離した。遠心分離後、ガラスパスツールピペット (VWR) を用いてPBMC層を慎重に取り出し、これを合わせて清潔な50mlバイアルに入れた。細胞を室温、1500rpmで10分間の遠心分離により上記改変培地で2回洗浄し、トリパンブルー染色により細胞密度を決定した。最後の洗浄後に、細胞を適当な体積の10%DMSO/FBS培地中に再懸濁させ、上記の通りに凍結させた。

【0742】

B細胞培養

B細胞培養の開始当日に、PBMC、脾細胞またはリンパ節のバイアルを使用するために解凍した。バイアルLN2タンクから取り出し、解凍されるまで37℃の水浴中に置き

た。バイアルの内容物を15mlのコニカル遠心管(Corning)に移し、この遠心管に上記改変RPMI 10mlを徐々に加えた。細胞を1.5Krpmで5分間遠心分離し、上清を捨てた。細胞を新鮮な培地10ml中に再懸濁させた。細胞密度および生存率をトリパンブルーにより決定した。細胞を再び洗浄し、1E07細胞/80μLで培地中に再懸濁させた。細胞懸濁液にビオチン化hуNGF(B hуNGF)を加えて最終濃度3μg/mlとし、4℃で30分間インキュベートした。リン酸で緩衝した(PBF):無Ca/MgPBS(Hyclone)、2mMエチレンジアミン四酢酸(EDTA)、0.5%ウシ血清アルブミン(BSA)(Sigma-biotin free)10mlで2回洗浄して、未結合のB hуNGFを除去した。2回目の洗浄の後、細胞をPBF中に1E07細胞/80μlで再懸濁させた。この細胞懸濁液に、1E7細胞当たり20μlのMACS(登録商標)ストレプトアビジンビーズ(Miltenyi)を加えた。細胞を4℃で15分間インキュベートした。細胞を1E7細胞当たり2mlのPBFで1回洗浄した。洗浄後、細胞をPBF中に1E08細胞/500μlで再懸濁させて用意した。MACS(登録商標)MSカラム(Miltenyi)を磁気スタンド(Miltenyi)上、PBF500mlで予備洗浄した。細胞懸濁液をプレフィルターに通してカラムに加え、未結合の画分を収集した。カラムをPBF緩衝液1.5mlで洗浄した。カラムを磁気スタンドから取り外し、清潔な無菌5mlポリプロピレンFalconチューブ上に置いた。カラム上端にPBF緩衝液1mlを加え、陽性選択された細胞を収集した。陽性細胞および陰性細胞の画分の収率および生存率をトリパンブルー染色により決定した。陽性選択の収率は、平均で開始細胞濃度の1%であった。

【0743】

予備的な細胞スクリーニングを確立して、培養の播種レベルに関する情報を得た。プレートに1ウェル当たり10個、25個、50個、100個または200個のenriched B細胞を播種した。さらに、各ウェルには、50K細胞/ウェルの放射線照射したEL-4、B5細胞(5,000Rad)および高グルコース改変RPMI培地中適当な濃度の活性化ウサギT細胞上清(米国特許出願公開第20070269868号を参照されたい)(調製に応じて1~5%の範囲)が最終体積250μl/ウェルで含まれていた。培養物を37℃、4%CO₂で5~7日間インキュベートした。

【0744】

選択的抗体分泌B細胞の同定

5日目~7日目の間に培養物の抗原認識および機能活性を試験した。

【0745】

抗原認識スクリーニング

ELISAフォーマットは、抗体の入手源としてB細胞培養(BCC)ウェルの上清50μlを用いたことを除いて上記の通りに用いる。抗原でコートしたプレートに訓化培地を移す。陽性ウェルを特定した後、上清を取り出して96ウェルマスタープレート(1つまたは複数)に移す。次いで、上清を1ウェル当たり40μl残してすべて除去し、FBS中16%のDMSOを1ウェル当たり60μl加えて元の培養プレートを凍結させた。10%DMSOを添加した後、緩慢凍結するようにプレートをペーパータオルに包み、-70℃で凍結させた。

【0746】

機能活性スクリーニング

NGF抗体がNGF依存性の細胞増殖を阻止する能力を試験するために、本発明者らはTF-1細胞を用いた(Chevalierら, Expression and functionality of the trkA proto-oncogene product/NGF receptor in undifferentiated hematopoietic cells. Blood(1994)vol. 83(6)pp. 1479-85)。簡潔に述べれば、rhuGM-CSFを添加した10%FBS cRPMI培地(「完全培地」)でTF-1細胞を維持した。アッセイ当日に、抗体を丸底96ウェルプレート中、完全培地で連続希釈した。同時にB-NGF(R&D sys

t e m s) を加え、得られた抗体／B－N G F 混合物を 3 7℃で 1 時間インキュベートした。A b と B－N G F の混合物をインキュベートしている間に、T F－1 細胞を完全培地で 3 回洗浄して、計数し、1 ウェル当たり体積 5 0 μ L 中 2 5, 0 0 0 個の細胞で平底 9 6 ウェルプレートに播いた。1 時間のインキュベーション後、N G F－抗体混合物を細胞に加え、プレートを加湿 5 % C O₂ インキュベーター中、3 7℃で 4 8 時間インキュベートした。「C e l l T i t e r」a q u e o u s o n e s o l u t i o n c e l l p r o l i f e r a t i o n a s s a y (P r o m e g a) を製造者の使用説明書に従って用い、細胞増殖を測定した。G r a p h P a d P r i s m プログラムを用いて、シグナルの抗体濃度依存性を解析し、I C 5 0 値を算出した。

【0747】

10

B細胞回収

目的とするウェルを含むプレートを－7 0℃から取り出し、1 ウェル当たり 5 ～ 2 0 0 μ l の培地で洗浄して、各ウェルの細胞を回収した。洗浄液を 1. 5 m l の無菌遠心管にプールし、1 5 0 0 r p m で 2 分間、細胞をペレット化した。

【0748】

チューブの上下を逆にして再び回転させ、上清を慎重に除去した。細胞を 1 0 0 μ l / チューブの培地中に再懸濁させた。細胞懸濁液に、ビオチン化 N G F でコートしたストレプトアビジン M 2 8 0 d y n a b e a d s (I n v i t r o g e n) 1 0 0 μ l と、培地で 1 : 1 0 0 に希釈したヤギ抗ウサギ H & L I g G－F I T C 1 6 μ l とを加えた。

【0749】

20

細胞／ビーズ／F I T C 懸濁液 2 0 μ l を取り出し、5 μ l の液滴を予め S i g m a c o t e (S i g m a) で処理したガラススライド (C o r n i n g) 上に 3 5 ～ 4 0 滴 / スライドで滴下した。パラフィン油 (J T B a k e r) の不透過性バリアを加えて液滴を浸し、スライドを暗所、4 % C O₂ 中、3 7℃で 9 0 分間インキュベートした。

【0750】

抗体の分泌による周囲の蛍光環、ビーズと結合したビオチン化抗原の認識とそれに続く蛍光－I g G 検出試薬による検出によって、抗体を産生する特異的 B 細胞を特定することができる。目的とする細胞が特定されてから、蛍光環の中心部にある細胞をマイクロマニピュレーター (E p p e n d o r f) で回収した。抗体を産生し排出する単一の細胞を 2 5 0 μ l の微小遠心管に移し、ドライアイス上に置いた。目的とする細胞をすべて回収した後、細胞を長期保管のために－7 0℃のところへ移した。

30

【0751】

抗原特異的 B 細胞からの抗体配列の単離

組み合わせた R T－P C R に基づく方法を用いて、単一の単離 B 細胞、すなわちクローン B 細胞集団から単離された抗原特異的 B 細胞から抗体配列を回収した。プライマーをウサギ免疫グロブリン配列のような標的免疫グロブリン遺伝子の保存された定常領域（重鎖および軽鎖）とアニールするように設計し、2 段階の入れ子型 P C R の回収段階を用いて抗体配列を得る。各ウェル由来のアンプリコンの回収および大きさの整合性を解析する。次いで、得られたフラグメントを A l u I で消化し、配列のクローン性をフィンガープリントにより確認する。同一の配列は電気泳動解析で共通の断片化パターンを示す。次いで、元の重鎖および軽鎖のアンプリコンフラグメントを H i n d I I I と X h o I または H i n d I I I と B s i w I で制限酵素的消化し、クローン化のための DNA 断片をそれぞれ調製する。次いで、得られた消化産物を発現ベクター内に連結し、プラスミドの増殖および産生のために細菌内に形質転換する。配列の特徴付けのためにクローンを選択する。

40

【0752】

所望の抗原特異性および／または機能特性を有するモノクローナル抗体の組換えによる作製

単一のモノクローナル抗体を含む各ウェルの正確な完全長の抗体配列を確立し、Q i a g e n 社の固相方法論を用いてミニプレップ DNA を調製する。次いで、この DNA を用いて哺乳動物細胞に形質移入し、組換え完全長抗体を産生させる。抗体を含有する上清ま

50

たはプロテインAアフィニティー精製した抗体の抗原認識および機能特性を試験し、組換え抗体タンパク質中に元の特徴がみられることを確認する。

【0753】

抗原特異的ELISA

ヒトNGFと結合する抗体およびFabフラグメントを特定し特徴付けるために、抗体を含有する溶液およびFabを含有する溶液をELISAにより試験した。簡潔に述べれば、ニュートラビジンでコートしたプレート(Thermo Scientific)を室温で1時間、ELISA緩衝液(0.1mg/mL BSA、1×PBS pH7.4、0.002% Tween 20および0.005% アジ化ナトリウム)でブロックした。次いで、プレートを室温で1時間、ビオチン化B-NGFを1μg/mLでELISA緩衝液に溶かした溶液でコートした。次いで、洗浄段階(PBS+0.05% Tween 20で3回)および2回目のELISA緩衝液によるブロックを行った。次いで、組換え抗体またはFabをプレートに加え、室温で1時間インキュベートした後、PBS/Tween溶液で3回洗浄した。発色用に、抗ヒトFc-HRPまたは抗ヒトFabフラグメントHRP(ELISA緩衝液で1:5000に希釈)をウェルに加え、室温で45分間インキュベートした。PBS/Tween溶液による3回の洗浄段階の後、TMB基質を用いて3分間、プレートを発色させ、0.5M HClを用いて停止させ、450nmで読み取った。

【0754】

結果：図24～40は、抗NGF抗体Ab1～Ab21がNGFと結合することを示している。さらに、図28および29は、Fab抗体フラグメントFab1およびFab2がNGFと結合することを示している。

【0755】

機能活性スクリーニング

NGF抗体がNGF依存性およびTrkA受容体介在性の細胞増殖活性を阻止する能力を試験するために、本発明者らはTF-1細胞を用いた(Chevalierら, Expression and functionality of the trkA proto-oncogene product/NGF receptor in undifferentiated hematopoietic cells. Blood (1994) vol. 83 (6) pp. 1479-85)。簡潔に述べれば、rhugM-CSFを添加した10% FBS cRPMI培地(「完全培地」)でTF-1細胞を維持した。アッセイ当日に、抗体を丸底96ウェルプレート中、完全培地で連続希釈した。同時にB-NGF(R&D systems)を加え、得られた抗体/B-NGF混合物を37℃で1時間インキュベートした。AbとB-NGFの混合物をインキュベートしている間に、TF-1細胞を完全培地で3回洗浄して、計数し、1ウェル当たり体積50μL中25,000個の細胞で平底96ウェルプレートに播いた。1時間のインキュベーション後、NGF-抗体混合物を細胞に加え、プレートを加湿5% CO₂ インキュベーター中、37℃で48時間インキュベートした。「CellTiter」aqueous one solution cell proliferation assay(Promega)を製造者の使用説明書に従って用い、細胞増殖を測定した。GraphPad Prismプログラムを用いて、シグナルの抗体濃度依存性を解析し、IC50値を算出した。

【0756】

結果：図41～52は、抗NGF抗体Ab1～Ab20がTF-1細胞の増殖を阻害することを示している。さらに、図44は、Fab抗体フラグメントも同様にTF-1細胞の増殖を阻害することを示している。このFab抗体フラグメントは、1.) ピキア・パストリス(Pichia pastoris)でのFab2発現および2.) ピキア・パストリス(Pichia pastoris)で産生されたAb21の酵素的消化(Fab1)により作製されたものである。

【0757】

実施例 2：酵素による F a b フラグメントの作製

固定化パパイン (Thermo/Pierce) を製造者の使用説明書の通りに用いて、パパイン消化を行った。簡潔に述べれば、精製抗体をシステイン/HCl 含有緩衝液中、固定化パパインとともに、37℃で穏やかに揺り動かしながらインキュベートした。アリコートを採取し、SDS-PAGEを用いて重鎖の切断を解析することにより、消化をモニターした。反応を停止させるために、固定化パパインを回転により除去し、50mM トリス pH7.5 で洗浄し、ろ過した。MabSelect Sure (GE) カラムを用いて未消化の完全長抗体およびFcフラグメントを除去した。

【0758】**実施例 3：酵母細胞での発現**

抗体遺伝子：キメラヒト化ウサギモノクローナル抗体の合成を指令する遺伝子をクローン化し構築した。

【0759】**方法**

重鎖および軽鎖抗体のためのピキア・パストリス (*Pichia pastoris*) 発現ベクターの構築

軽鎖および重鎖フラグメント (キメラまたはヒト化) は商業的に合成されたものであり、これを pGAP 発現ベクター内にサブクローン化した。pGAP 発現ベクターは、免疫グロブリン鎖および排出のためのヒト血清アルブミン (HAS) リーダー配列の発現を駆動するのに GAP プロモーターを用いるものである。さらに、このベクターは、細菌の複製起点のような通常のエLEMENT と、抗生物質 Zeocin (商標) (フレオマイシン) に対する耐性を付与する Sh ble 遺伝子のコピーとを含んでいる。Zeocin (商標) は、ゲノム内に組み込まれた所望の発現ベクターを含む菌株の選択手段となる。

【0760】

ピキア・パストリス (*Pichia pastoris*) の一倍体 met1 および lys3 宿主菌株内への発現ベクターの形質転換

一倍体のピキア・パストリス (*P. pastoris*) 株の形質転換およびピキア・パストリス (*P. pastoris*) の生殖周期の操作に使用した方法はすべて、*Pichia Protocols (Methods in Molecular Biology Higgings, DR, and Cregg, JM 編, 1998. Humana Press, Totowa, NJ)* に記載されている通りに行った。形質転換の前に、各ベクターが GAP プロモーター部位に組み込まれるように、ベクターを GAP プロモーター配列内で線状にした。エレクトロポレーションを用いて一倍体株に形質移入し、成功した形質転換体を YPD Zeocin (商標) プレート上で選択した後、96 ウェルプレートで2日間培養した。一倍体株を交配して、栄養要求性マーカー (すなわち、Lys および Met) の非存在下で増殖する能力に関して選択した。次いで、発現をモニターするためのプロテインAバイオセンサーを備えた ForteBio Octet システムを用いて、完全長または F a b 抗体フラグメントを発現する能力に関して二倍体株を選択した。

【0761】

実施例 4：ピキア・パストリス (*Pichia pastoris*) での Ab21 および F a b 2 の発現

完全長 Ab21 または F a b 2 抗体フラグメントを発現する2種類のピキア (*Pichia*) 株を作製した。完全長または F a b を発現する両菌株では、一倍体株を作出し、次いで交配した。一方の一倍体株は Ab21 の完全長の軽鎖配列を発現し、もう一方の一倍体株は、完全長 Ab21 か F a b フラグメント (例えば、F a b 2) を発現するための短縮形態の重鎖のいずれかを発現した。各二倍体株を用いて研究用の細胞バンクを作製し、バイオリアクターでの発現に使用した。

【0762】

最初に、次に挙げる栄養素 (%w/v) で構成される培地を使用した研究用の細胞バン

10

20

30

40

50

クを用いて、接種材料を増殖させた：酵母抽出物 3 %、無水デキストロース 4 %、YNB 1. 34 %、100 mMリン酸カリウムを含む 0. 004 %ビオチン。培養物を振盪培養器中、30℃、300 rpmで約24時間増殖させて、発酵槽用の接種材料を作製した。次いで、無菌増殖培地の入った Labfors の稼働体積 2. 5 Lの容器に10%の接種材料を加えた。完全長 Ab 21 のための増殖培地は、次に挙げる栄養素で構成されていた：硫酸カリウム 18. 2 g/L、第一リン酸アンモニウム 36. 4 g/L、リン酸二カリウム 12. 8 g/L、硫酸マグネシウム七水和物 3. 72 g/L、クエン酸ナトリウム二水和物 10 g/L、グリセロール 40 g/L、酵母抽出物 30 g/L、PTM1 微量金属 4. 35 mL/L および 204 消泡剤 1. 67 mL/L。PTM1 微量金属溶液は、次に挙げる成分で構成されていた：硫酸銅五水和物 6 g/L、ヨウ化ナトリウム 0. 08 g/L、硫酸マンガン水和物 3 g/L、モリブデン酸ナトリウム二水和物 0. 2 g/L、ホウ酸 0. 02 g/L、塩化コバルト 0. 5 g/L、塩化亜鉛 20 g/L、硫酸第一鉄七水和物 65 g/L、ビオチン 0. 2 g/L および硫酸 5 mL/L。

【0763】

Fab 2 フラグメントのための増殖培地は、次に挙げる栄養素で構成されていた：硫酸カリウム 10. 92 g/L、第一リン酸アンモニウム 21. 84 g/L、リン酸二カリウム 7. 68 g/L、硫酸マグネシウム七水和物 3. 72 g/L、クエン酸ナトリウム二水和物 10 g/L、グリセロール 40 g/L、酵母抽出物 30 g/L、PTM1 微量金属溶液 2. 61 mL/L および 204 消泡剤 1. 67 mL/L。PTM1 微量金属溶液は、次に挙げる成分で構成されていた：硫酸銅五水和物 6 g/L、ヨウ化ナトリウム 0. 08 g/L、硫酸マンガン水和物 3 g/L、モリブデン酸ナトリウム二水和物 0. 2 g/L、ホウ酸 0. 02 g/L、塩化コバルト 0. 5 g/L、塩化亜鉛 20 g/L、硫酸第一鉄七水和物 65 g/L、ビオチン 0. 2 g/L および硫酸 5 mL/L。両タンパク質ともほぼ同じ条件下で発現させた。簡潔に述べれば、バイオリアクター工程の制御パラメータを次のように設定した：攪拌を 1000 rpm、気流を 1 分あたり 1. 35 標準リットル、温度を 28℃とし、水酸化アンモニウムを用いて pH を 6 に制御した。酸素の補給は行わなかった。

【0764】

発酵培養物を約 12～16 時間、初期グリセロールの消費が溶存酸素の急増により示されるまで培養した。この培養物を溶存酸素の急増後に約 3 時間飢餓させた。この飢餓期の後、エタノールが 1 % (w/v) に達するまでリアクターにエタノールを大量に加えた。発酵培養物を 15～30 分間、平衡化させた。エタノールの大量添加の 30 分後に栄養分の添加を開始し、40 分間、1 mL/分の一定速度に設定し、次いで、残りの実行時間はエタノールセンサーにより供給ポンプを制御して、エタノールの濃度を 1 % に維持した。栄養分は次に挙げる成分で構成されていた：酵母抽出物 50 g/L、デキストロース 500 g/L、硫酸マグネシウム七水和物 3 g/L および PTM1 微量金属 12 mL/L。完全長 Ab 21 のための発酵では、クエン酸ナトリウム二水和物 (0. 5 g/L) も栄養分に加えた。総培養時間は約 90 時間であった。

【0765】

実施例 5：NGF-p75 相互作用の阻害

NGF は、細胞表面の 2 種類の受容体 TrkA および p75 と相互作用することが報告されている。「Octet」によるバイレイヤー干渉法のアッセイを用いて、抗 NGF 抗体が NGF-p75 相互作用を阻害することができるか否かを明らかにした。簡潔に述べれば、ストレプトアビジン (SA) センサーを 1×キネティクス緩衝液 (1×PBS pH 7. 4、0. 002 % Tween 20、0. 005 % アジ化ナトリウム および 0. 1 mg/mL BSA) で予め濡らした。再び 1×キネティクス緩衝液を用いてベースラインを得た後、ビオチン化抗体の結合を試験し、1×キネティクス緩衝液で別の短いベースラインを得た。次に NGF (1 μg/mL) を負荷し、次いでセンサーを 1×キネティクス緩衝液に移した。NGF を抗体に負荷した後、1つのセンサーでは、ビオチン化抗体の 5 μg/mL の未標識溶液を用いて、NGF のあらゆる可能性のある部位をブロックした。

対照として、この2回目のブロッキング段階の間に同様のセンサーを1×キネティクス緩衝液に浸した。次いで、p75を含有する溶液(1.2 μg/mL)に両センサーを接触させた。次いで、抗体に固定化されたNGFを可溶性のp75に接触させたときのシグナル増加をモニターすることにより、抗体がNGF-p75相互作用を阻止することができるかを明らかにした。

【0766】

結果：図53および54は、抗NGF抗体Ab3、Ab4、Ab15およびAb16がNGFとp75との結合を阻害しないことを示しているのに対し、図55は、抗体Ab5がNGFとp75との結合を阻害することを示している。

【0767】

実施例6：神経突起PC12アッセイ

抗NGF抗体がp75受容体およびTrkA受容体により仲介されるNGFシグナル伝達を阻止する能力を、ラット副腎髄質細胞系PC12を用いて*in vitro*で測定した。PC12細胞は、細胞表面にp75受容体とTrkA受容体の両方を発現する(Urdialesら, Cell cycle phase-specific surface expression of nerve growth factor receptors TrkA and p75 (NTR). J Neurosci (1998) vol. 18 (17) pp. 6767-75); (GreeneおよびTischler, Establishment of a noradrenergic clonal line of rat adrenal pheochromocytoma cells which respond to nerve growth factor. Proc Natl Acad Sci USA (1976) vol. 73 (7) pp. 2424-8)。簡潔に述べれば、PC12細胞を15% FBS RPMIを用いた培養で維持し、プライミングの前に、コラーゲンIをコートしたフラスコで48時間培養した。次いで、細胞を分化培地(1%ウマ血清RPMI)中、100 ng/mLのNGFに曝露することにより、72時間「プライム」した。アッセイ当日に、細胞スクレーパーで細胞を回収し、分化培地(NGFを含まない)中に再懸濁させて洗浄し、コラーゲンIをコートした24ウェルプレート上に播いた。アッセイでのNGFの最終濃度は100 ng/mLであった。被検抗体をPC-12細胞に添加する前に、抗体を分化培地中、NGFとともに様々なモル比(10倍~0.1倍)で1時間プレインキュベートした。3日目に、培地を静かに除去して抗体-NGF混合物と入れ換えた。10日目に、ウェルを顕微鏡下で観察し、10倍の拡大レンズを用いて代表的な視野をデジタル化した。

【0768】

結果：図56~69ならびに図78および79は、抗NGF抗体Ab1~Ab3、Ab5~Ab11、Ab13、Ab15、Ab16およびAb17~Ab19が、濃度の増加とともにPC-12神経突起細胞の伸長を阻害することを示している。抗体Ab3、Ab15およびAb16は、他の被検抗NGF抗体と同じ抗体濃度でアッセイしたときに、これらよりもかなり少ないPC-12神経突起細胞の伸長阻害を示すことがわかる。この差は、Ab3、Ab15およびAb16がすべて、TrkA/NGF相互作用は阻害するが、NGF/p75相互作用は阻害しないのに対し、残りの被検抗体がNGFとTrkAおよびNGFとp75の両方の相互作用を阻害することに起因すると考えられる。

【0769】

実施例7：歩行分析により評価した疼痛の調節

抗NGF物質(完全長およびFabフラグメント)が疼痛を調節する能力におけるその効果を評価するために、PGPS(ペプチドグリカン多糖)誘導性の関節炎モデルを用いた。簡潔に述べれば、(一)17日目にPGPSの溶液を雄性Lewisラットの足首に注射した。1日後、PGPS注射に対する足首の炎症性応答を評価し、不応答の個体を除外した。応答した個体を17日間回復させた後、PGPSの尾静脈静注により再活性化した。

【0770】

再活性化の2時間前または前夜に完全長抗体を1回投与した。F a bフラグメントを1日1回投与し、1回目の投与は再活性化の2時間前に行った。歩行分析を行った。足の腹側にインクを塗り、紙の上を移動する際の体重負荷（足跡）を記録した。ラットの両後足を青色のインクに浸し、疼痛が疑われる側の肢の足背側に黒いインクを塗った。ラットを紙の上に置いて歩かせた。歩行運動を次のようにスコア化した：0＝正常歩行、両足ともインクが均等に着色；1＝わずかな跛行、つま先部分の着色が明白で踵部分の着色も一部見られる；2＝跛行、つま先部分の着色のみが見られる；3＝引きずり歩行／片肢を持ち上げた歩行、足背側の黒い引きずった跡が見られる；4＝片肢を持ち上げた歩行、疼痛側の肢の着色が見られない。

【0771】

10

結果：図70は、抗体A b 2、A b 6およびA b 8の投与後の歩行分析による評価で、疼痛が対照で得られた結果に比べて統計的に有意に減少したことを示している。

【0772】

図71は、抗体A b 6およびF a b 1の投与後の歩行分析による評価で、疼痛が対照で得られた結果に比べて統計的に有意に減少したことを示している。

【0773】

図72は、抗体A b 3の投与後の歩行分析による評価で、疼痛が対照で得られた結果に比べて統計的に有意に減少したことを示している。

【0774】

図73は、抗体A b 6および抗体A b 2 1の投与後の歩行分析による評価で、疼痛が対照で得られた結果に比べて統計的に有意に減少したことを示している。

20

【0775】

実施例8：PGPS誘導性の関節炎における炎症

疼痛を評価するための用いたPGPS（ペプチドグリカン多糖）誘導性の関節炎モデル（実施例7）では、関連する炎症応答もみられる。炎症を評価するために、0日目の再活性化前、1日目、2日目、3日目および4日目に全個体の足首のキャリパー測定を行い、処置ラットに認められる抗炎症性または炎症誘発性効果を判定した。

【0776】

結果：図74は、A b 2、A b 6およびA b 8の各抗体の投与後に、炎症が対照での炎症の結果に比べて増加したことを示している。

30

【0777】

図75は、F a b 1抗体フラグメントの投与後に、対照での炎症の結果に比べて炎症の有意な増加がみられなかったことを示している。これに対し、抗体A b 6を投与したところ、炎症が対照での炎症の結果に比べて増加した。

【0778】

図76は、抗体A b 3の投与後に、炎症が対照での炎症の結果に比べて増加したことを示している。

【0779】

図77も同様に、抗体A b 6および抗体A b 2 1の投与後に、炎症が対照での炎症の結果に比べて増加したことを示している。

40

【図 1－1】

Ab1重鎖完全長タンパク質の配列。

QSLSESGRLVTPGPTPLTLTCTVSGFSLSSYAMSWVRQAPGKLEWIGVITSIGSTVYAS
WAKGRFTISKSTSTVDLKITSPTTEDTATYFCARGYDDYDMTYFNIWQGTLTVTSSAS
TSGSFVFLAPSSKSTSGSTLAALGCLVKDYPPEPVTYVSNMGSALTSGVHTPPAVLQSSGL
YSLSGPTVTPSSSLATQTVYCNWNIKSNYKVDKVRPEKSKDKHTCPQPAPELLQGPS
VLPFPFKPKDTLMI SKTPEVTCTVVVDVSHEDFEVKFNWYDGVENVNAKTKPREBOYAST
YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTKSKAKQGPPEPQVYTLPPSRBEMT
KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEMWSNQGPENNYKTTTPVLVDSGSPFLYSKLTVDKSRWQK
GNVFSVCVMHEALNNHYTKQSLSLSPGK (配列番号 4)

可変領域重鎖タンパク質の配列。

QSLSESGRLVTPGPTPLTLTCTVSGFSLSSYAMSWVRQAPGKLEWIGVITSIGSTVYAS
WAKGRFTISKSTSTVDLKITSPTTEDTATYFCARGYDDYDMTYFNIWQGTLTVTSSAS
(配列番号 3)

可変領域重鎖タンパク質の配列。CDR 1：太字；CDR 2：下線；C
DR 3：イタリック体。

QSLSESGRLVTPGPTPLTLTCTVSGFSLSSYAMSWVRQAPGKLEWIGVITSIGSTVYAS
WAKGRFTISKSTSTVDLKITSPTTEDTATYFCARGYDDYDMTYFNIWQGTLTVTSSAS
(それぞれ配列番号 8、9、10)

可変領域重鎖 DNA の配列。CDR 1：太字；CDR 2：下線；CDR
3：イタリック体。

CAGTCGCTGGAGGAGTCCGGGGTGCCTGGTCAAGCTGGGACACCCCTGACACTCAAC
TGACAGTCTCTGCTCTCCCTCAGTAGTATGCAATGAGCTGGTCCGACAGCTCCA
GGAAAGGGGCTCGAATGGAATCGAGTCACTTAGTATGTATGTAGTCAAGCTCAAGCGAGC
TGGGCGAAAGGCGGATTCACCATCTCCAAACCTCGAACAGGTGGATCTGAAAATCACT
AGTCCGAAACCGAGACAGCGCACTATTCTGTCCAGAGCTACGATGACTATGAT
GAGA TGACCTACTTTAAACATCTGGGGCCAGGGGACCCCTGCTCAAGCTCTGAGGCTCC
ACCAAGGGCCATCGGCTCTCCCTGACCCCTCCTCCAGAGGACACTCTGGGGGACA
CGCGCCCTGGGCTCGCTGGTCAAGGACTACTTCCCAGAACCGGTGACGGTGTCTGCGTGAAC
TCAGGCGCCCTGACAGCAGCGGCTGACACACTTCCCGCTGTCTCAGAGTCTCAGAGCTC
TACTCTCTCGAGGCTGGTGGACGCTCTCCAGCAGCTTCTGACAGGCTGAGTCTGAGTCT
TGCAGCTGGAATCACAAGCCAGCAACCCAGAGTGGACAGAGAGTTGAGCCAAATCT
TGTGCAAAACTCACACATCGCCACCGTGCACGACCTCAGATCTCCGCGAGCCCTGAGGCT
GATCTCTCTCTTCCCCCAAACCCAGACACCTCAGATCTCCGCGAGCCCTGAGGCT
ACATCGCTGGTGGAGCTGAGCCAGAGCAAGCCCTGAGTCAAGTCAACTGGTACGTG

重鎖完全長 DNA の配列。

CAGTCGCTGGAGGAGTCCGGGGTGCCTGGTCAAGCTGGGACACCCCTGACACTCAAC
TGACAGTCTCTGCTCTCCCTCAGTAGTATGCAATGAGCTGGTCCGACAGCTCCA
GGAAAGGGGCTCGAATGGAATCGAGTCACTTAGTATGTATGTAGTCAAGCTCAAGCGAGC
TGGGCGAAAGGCGGATTCACCATCTCCAAACCTCGAACAGGTGGATCTGAAAATCACT
AGTCCGAAACCGAGACAGCGCACTATTCTGTCCAGAGCTACGATGACTATGAT
GAGA TGACCTACTTTAAACATCTGGGGCCAGGGGACCCCTGCTCAAGCTCTGAGGCTCC
ACCAAGGGCCATCGGCTCTCCCTGACCCCTCCTCCAGAGGACACTCTGGGGGACA
CGCGCCCTGGGCTCGCTGGTCAAGGACTACTTCCCAGAACCGGTGACGGTGTCTGCGTGAAC
TCAGGCGCCCTGACAGCAGCGGCTGACACACTTCCCGCTGTCTCAGAGTCTCAGAGCTC
TACTCTCTCGAGGCTGGTGGACGCTCTCCAGCAGCTTCTGACAGGCTGAGTCTGAGTCT
TGCAGCTGGAATCACAAGCCAGCAACCCAGAGTGGACAGAGAGTTGAGCCAAATCT
TGTGCAAAACTCACACATCGCCACCGTGCACGACCTCAGATCTCCGCGAGCCCTGAGGCT
GATCTCTCTCTTCCCCCAAACCCAGACACCTCAGATCTCCGCGAGCCCTGAGGCT
ACATCGCTGGTGGAGCTGAGCCAGAGCAAGCCCTGAGTCAAGTCAACTGGTACGTG

【図 2－1】

Ab2重鎖完全長タンパク質の配列。

EVQLVESGGGLVPGGSLRLSCAASGPTVSSYAMSWVRQAPGKLEWVGVIITSIGSTVYA
SSAKGRFTISKSTSTVDLKITSPTTEDTATYFCARGYDDYDMTYFNIWQGTLTVTSSAS
SASTKGPVFLAPSSKSTSGSTLAALGCLVKDYPPEPVTYVSNMGSALTSGVHTPPAVLQGS
SLYSLSSVTVTPSSSLATQTVYCNWNIKSNYKVDKVRPEKSKDKHTCPQPAPELLQGPS
VLPFPFKPKDTLMI SKTPEVTCTVVVDVSHEDFEVKFNWYDGVENVNAKTKPREBOY
ASTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTKSKAKQGPPEPQVYTLPPSRBEMT
KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEMWSNQGPENNYKTTTPVLVDSGSPFLYSKLTVDKSR
WQQGNVFSVCVMHEALNNHYTKQSLSLSPGK (配列番号 14)

可変領域重鎖タンパク質の配列。

EVQLVESGGGLVPGGSLRLSCAASGPTVSSYAMSWVRQAPGKLEWVGVIITSIGSTVYA
SSAKGRFTISKSTSTVDLKITSPTTEDTATYFCARGYDDYDMTYFNIWQGTLTVTSSAS
(配列番号 13)

可変領域重鎖タンパク質の配列。CDR 1：太字；CDR 2：下線；C
DR 3：イタリック体。

EVQLVESGGGLVPGGSLRLSCAASGPTVSSYAMSWVRQAPGKLEWVGVIITSIGSTVYA
SSAKGRFTISKSTSTVDLKITSPTTEDTATYFCARGYDDYDMTYFNIWQGTLTVTSSAS
(それぞれ配列番号 18、19、20)

可変領域重鎖 DNA の配列。CDR 1：太字；CDR 2：下線；CDR
3：イタリック体。

GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGAGGCTTGGTCAAGCTGGGGGGTCCCTGAGACTC
TCTGTGCAGCTCTGGATTCACCGTCAGTAGTATGCAATGAGCTGGTCCGTCAGGCT
CCAGGGAAGGGGCTCGAATGGAATCGAGTCACTTAGTATGTATGTAGTCAAGCTCAAGCGG
AGCAGCGCGAAAGGCGGATTCACCATCTCCAGAGCAATTCGAAAGACACCCCTGTATCTT
CAAAATGAACAGCTCGAGGCTGAGGACACTCTGTGTATTAATGTCTGAGAGGCTACGAT
GACTATGATGAGATGACCTACTTTAAACATCTGGGGCCAAAGGACCCCTGCTCAAGCTCTCG
AGC (配列番号 21 3)

重鎖完全長 DNA の配列。

GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGAGGCTTGGTCCAGCTGGGGGGTCCCTGAGACTC
TCTGTGCAGCTCTGGATTCACCGTCAGTAGTATGCAATGAGCTGGTCCGTCAGGCT
CCAGGGAAGGGGCTCGAATGGAATCGAGTCACTTAGTATGTATGTAGTCAAGCTCAAGCGG
AGCAGCGCGAAAGGCGGATTCACCATCTCCAGAGCAATTCGAAAGACACCCCTGTATCTT
CAAAATGAACAGCTCGAGGCTGAGGACACTCTGTGTATTAATGTCTGAGAGGCTACGAT
GACTATGATGAGATGACCTACTTTAAACATCTGGGGCCAAAGGACCCCTGCTCAAGCTCTCG
AGCGCCCTCACCAGAGGCCCATCGGCTTTCGCCCTGGCACCCCTCTCCAGAGGACACTCT
GGGGGACAGCGGCTCGGCTCTGGTCAAGGACTACTCTCCCGGACAGCGGTGACGCTG
TOSTGGAATCGAGGCGCCCTGACAGCGCGGCTGACACACTTCCCGCTGTCTACAGTCC
TCAGGACTCTACTCCTCAGCAGSGTGGTGAAGCTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCAACCGAC
ACCTACATCTGCAAGTGAATCACAAGGCCAGCAACCAAGGTGGACAGAGAGGATGAG
CCCAAACTTTGTGACAAACTCACACATGCCAACCGTGGCCAGACCACTGAACTCCTGGGG
GGAACCTCGCTCTCTCTTCCCCCAAACCCAGAGACACCTCATGATCTCCGAGACC
CCTGAGGTCACATGCTGGTGGTGGAGCTGAGCCAGAAACCCCTGAGCTCAAGTTCAC

【図 1－2】

GACCGCGTGGAGGTCATAATGCCAAGACAAAGCCCGGGAGGAGCAGTACGCCAGCACG
TACCGTGTGGTCAGCCTCTTACCGTCTTGACCAAGACTGGCTGTAATGGCAAGAGTAC
AAGTGCAGGCTCTCCAAAGGCTCTCCAGCGCCCATCGGAGAAACCATCTCCAAAGCC
AAAGGCGAGCCCCGAGAAACCAAGGTGTACACCTGCCGCCATCCCGGAGGAGATGACC
AAGAACCGAGTCAAGCTGACCTGCTGGTCAAGGCTTCTATCCCAAGCGACATCGCCGCTG
GAGTGGGAGGACAAATGGCAGCGGGAGAACACTCAAGACCAAGCGCTCCCGTCTGGAC
TCCGACCGCTCTCTTCTCTCTCTACAGCAAGCTCAAGCTGGACCAAGAGCAGGTGGCAGAG
GGGAAAGCTCTTCTCATGCTCGTGATGATGAGGCTCTGCAACCAACTACACGCAAGAG
AGCCTCTCTCTGTCTCCGGTAAATGA (配列番号 2 0 4)

軽鎖完全長タンパク質の配列。

ALVMTQTSPSSVAAVGGTVTINCQASQNIYSNLAWYQRPGRPKLLIYGASNLDAGVPS
RFGSGSGSTEYTLTISDLKDDVGTYYCQSAFSDSTENTFGGTEVVVKR
PPPSDEQLKSGTASVCLLNMFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSYSLSS
TLTSLKADYEKHKVYACEVTHQGLSPVTKFMRGEC (配列番号 2)

可変領域軽鎖タンパク質の配列。

ALVMTQTSPSSVAAVGGTVTINCQASQNIYSNLAWYQRPGRPKLLIYGASNLDAGVPS
RFGSGSGSTEYTLTISDLKDDVGTYYCQSAFSDSTENTFGGTEVVVKR
(配列番号 1)

可変領域軽鎖タンパク質の配列。CDR 1：太字；CDR 2：下線；C
DR 3：イタリック体。

ALVMTQTSPSSVAAVGGTVTINCQASQNIYSNLAWYQRPGRPKLLIYGASNLDAGVPS
RFGSGSGSTEYTLTISDLKDDVGTYYCQSAFSDSTENTFGGTEVVVKR
(それぞれ配列番号 5、6、7)

可変領域軽鎖 DNA の配列。CDR 1：太字；CDR 2：下線；CDR 3：
イタリック体。

GCCCTTGTGATGACCCAGACTCCATCCTCGTGTCTGACGTCTGGGAGGCAAGTCAAC
ATCAATTGGCCAGGCCAGTCAGAAACTTTACAGCAATTTAGCGCTGGTATCAACAGAGACCA
GGCAGCGCTCCCAAGCTCCTGATCTATGTGTGATCCAATCTGGATGCTGGGGTCCCATCG
CGGTTCAGAGGCAAGTGTCTGGGACAGAGTACACTCTCAACCATCAGGACGCTTGGAGTGT
GACGATGTTGGCACTTACTACTGTCAAAGTGCTTTTGAATAGTAGTAGTCAAGAAATACT
TTCGGGAGAGGACCGAGGTGGTGTCAAAGTACGGTGGCTGACCACTGTCTCTCATC
TTCGCCCATCTGATGAGCAGTGAATCTGGAACTGCTCTGTTGTGTGCTGCTGCTGAAT
AACTTCTATCCGAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAGGTGGATTAAGCCCTCCATTCGGT
AACTCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACTACAGCTCAGCAGC
ACCCCTGACGCTGAGCAAGCAGACTACGAGAAACAAAGCTTACGCTTGCAGCTCAAC
CATCAGGCGCTGAGCTCGCGCTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTATG
(配列番号 2 0 1)

軽鎖完全長 DNA の配列。

GCCCTTGTGATGACCCAGACTCCATCCTCGTGTCTGACGTCTGGGAGGCAAGTCAAC
ATCAATTGGCCAGGCCAGTCAGAAACTTTACAGCAATTTAGCGCTGGTATCAACAGAGACCA
GGCAGCGCTCCCAAGCTCCTGATCTATGTGTGATCCAATCTGGATGCTGGGGTCCCATCG
CGGTTCAGAGGCAAGTGTCTGGGACAGAGTACACTCTCAACCATCAGGACGCTTGGAGTGT
GACGATGTTGGCACTTACTACTGTCAAAGTGCTTTTGAATAGTAGTAGTCAAGAAATACT
TTCGGGAGAGGACCGAGGTGGTGTCAAAGTACGGTGGCTGACCACTGTCTCTCATC
TTCGCCCATCTGATGAGCAGTGAATCTGGAACTGCTCTGTTGTGTGCTGCTGCTGAAT
AACTTCTATCCGAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAGGTGGATTAAGCCCTCCATTCGGT
AACTCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACTACAGCTCAGCAGC
ACCCCTGACGCTGAGCAAGCAGACTACGAGAAACAAAGCTTACGCTTGCAGCTCAAC
CATCAGGCGCTGAGCTCGCGCTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTATG
(配列番号 2 0 2)

【図 2－2】

TGGTACTGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCCGGGAGGAGCAGTAC
GCCAGCAGTACCGTGTGGTCAGCGTCTTCAAGCTCCTGACCAAGGACTGGCTGAATGGC
AAGGAGTACAGTGCAGAGTCTCCAAACAAAGCCCTCCGAGCCCATCGAGAAACCATC
TCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCGGAGAACCAAGGTGTACACCTGCCCCATCCCGGGAG
GAGATGACCAAGAACAGAGTCAAGCTGACCTGCTGGTCAAAGGCTTCTATCCACAGGAC
ATCCGCTGAGGTGGAGAGCAGCGGCGAGCGGAGAACACTCAAGAACCAAGCTCCCTCC
GTCTGGAATCCGACGGCTCTCTCTCTCTACAGCAAGCTCACGCTTGACCAAGAGCGAG
TGGCAGCAGGGGAAAGCTCTTCTCATGCTCGTGATGATGAGGCTGCTGCAACCAACTAC
ACCGAAGAGGCTCTCTCTCTCTCCCGTAAATGA (配列番号 2 1 4)

軽鎖完全長タンパク質の配列。

DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCQASQNIYSNLAWYQKPKGAPKLLIYGASNLDAGVPS
RFGSGSGSTEYTLTISLQPDFFATYYCQSAFSDSTENTFGGTEVVVKR
PPPSDEQLKSGTASVCLLNMFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSYSLSS
TLTSLKADYEKHKVYACEVTHQGLSPVTKFMRGEC (配列番号 1 2)

可変領域軽鎖タンパク質の配列。

DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCQASQNIYSNLAWYQKPKGAPKLLIYGASNLDAGVPS
RFGSGSGSTEYTLTISLQPDFFATYYCQSAFSDSTENTFGGTEVVVKR
(配列番号 1 1)

可変領域軽鎖タンパク質の配列。CDR 1：太字；CDR 2：下線；C
DR 3：イタリック体。

DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCQASQNIYSNLAWYQKPKGAPKLLIYGASNLDAGVPS
RFGSGSGSTEYTLTISLQPDFFATYYCQSAFSDSTENTFGGTEVVVKR
(それぞれ配列番号 15、16、17)

可変領域軽鎖 DNA の配列。CDR 1：太字；CDR 2：下線；CDR 3：
イタリック体。

GACATCCAGATGACCCAGTCTCCTTCCACCCTGTCTGATCTGTAGGAGACAGAGTCAAC
ATCACTTGGCCAGGCCAGTCAGAAACTTTACAGCAACTTAGCGCTGGTATCAGCAGAAACCA
GGAAAGCCCTTAAGCTCCTGATCTATGTGTGATCCAATCTGGATGCTGGAGTCCCATCA
AGGTTCTCTGGCAGTGGATCTGGGACAGAGTACACTCTCAACATCAGCAGGCTCGACGCT
GATGATTTTCAACTTCTACTTCCAAAGTGCTTTTGAATGATGATGATCTGAAACACT
TTGGGCGAGGAGACAGAGTGGAAATCAAGCTGGCTGGCTGGCTGGCTGGCTGGCTGGCT
TTCGCCCATCTGATGAGCAGTGAATCTGGAACTGCTGCTCTGTTGTGTGCTGCTGAT
AACTTCTATCCGAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAGGTGGATAAGCCCTCCATTCGGT
AACTCCAGAGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACTACAGCTCAGCAGC
ACCCCTGACGCTGAGCAAGCAGACTACGAGAAACAAAGCTTACGCTCGGAGAGTCAAC
CATCAGGCGCTGAGCTCGCGCTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTATG
(配列番号 2 1 2)

軽鎖完全長 DNA の配列。

GACATCCAGATGACCCAGTCTCCTTCCACCCTGTCTGATCTGTAGGAGACAGAGTCAAC
ATCACTTGGCCAGGCCAGTCAGAAACTTTACAGCAACTTAGCGCTGGTATCAGCAGAAACCA
GGAAAGCCCTTAAGCTCCTGATCTATGTGTGATCCAATCTGGATGCTGGAGTCCCATCA
AGGTTCTCTGGCAGTGGATCTGGGACAGAGTACACTCTCAACATCAGCAGGCTCGACGCT
GATGATTTTCAACTTCTACTTCCAAAGTGCTTTTGAATGATGATGATCTGAAACACT
TTGGGCGAGGAGACAGAGTGGAAATCAAGCTGGCTGGCTGGCTGGCTGGCTGGCTGGCT
TTCGCCCATCTGATGAGCAGTGAATCTGGAACTGCTGCTCTGTTGTGTGCTGCTGAT
AACTTCTATCCGAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAGGTGGATAAGCCCTCCATTCGGT
AACTCCAGAGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACTACAGCTCAGCAGC
ACCCCTGACGCTGAGCAAGCAGACTACGAGAAACAAAGCTTACGCTCGGAGAGTCAAC
CATCAGGCGCTGAGCTCGCGCTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTATG
(配列番号 2 1 2)

【図 9－1】

Ab2重鎖完全長タンパク質の配列。

QSVBESGGRLVTPGTPLTLCTVSGIDLMSYMGWVRQAPGKGLYIGWISYGGTAYYAS
WAKGRFTISKSTVTVLKIITSPTIEDTATYFCARETFPVNYLIDWGQTLVTVSS
PSVFPFLAPSSKTSGGTAALGCLVKDYPPPEVTVSWNSGALTSVGHVTFPAVLQSGSLYSL
SSVTVFPSSSLGTQYICNVNHHKPSMTVDKRVPEKSCDKHTPCCPAPELLGGPSVFL
PPPKPDITLMSRTPEVTVCVVVDVSHEDPEVKFNWVVDGVEVHNAKTKPREBOYASTYRV
VSVLTVLHQDLNKGRIYKCKVSNKALPAPIEKTIISKAGQPREPQVYITLPPSREMTKNQ
VSLCLVKGFPSDIAVWESNGQPENNYIKTIPVLDSDQSFFLYSKLTVDKSRWQQGHV
FSCSVNHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号 8 4)

可変領域重鎖タンパク質の配列。

QSVBESGGRLVTPGTPLTLCTVSGIDLMSYMGWVRQAPGKGLYIGWISYGGTAYYAS
WAKGRFTISKSTVTVLKIITSPTIEDTATYFCARETFPVNYLIDWGQTLVTVSS
(配列番号 8 3)

可変領域重鎖タンパク質の配列。CDR1：太字；CDR2：下線；CDR3：イタリック体。

QSVBESGGRLVTPGTPLTLCTVSGIDLMSYMGWVRQAPGKGLYIGWISYGGTAYYAS
WAKGRFTISKSTVTVLKIITSPTIEDTATYFCARETFPVNYLIDWGQTLVTVSS
(それぞれ配列番号 8 8、8 9、9 0)

可変領域重鎖 DNA の配列。CDR1：太字；CDR2：下線；CDR3：イタリック体。

CAGTCGGTGGAGGAGTCCGGGGGTCGCTGGTCAAGCTCGGGACACCCCTGACACTCACCT
TGACAGCTCTCTGGAAATGACCTCAGTATGATTTCAATGGGCTGGGTCCGCGAGGCTCCA
GGAGAGGGCTGGAAATACATCGAGTGGATTAAGTATAGTGTGGTATCGACATTAACGCGAGC
TGGCGGAAGGGCGGATTCACCATCTCCAACCTCGACCGGTGGAGCTGAAGATCACCT
AGTCGGAATCGAGGACACGGGCCACTATTCTGTGCCAGAGAGACTCCTGTTAATATAT
TATTTGGACATTTGGGGCCAGGGGACCTCGTCAAGCTCGAGCGCTCCACCAAGGGC
CCATCGGTCTTCCCGCTGGACCTCTCCAGAGGACCTCTGGGGGACACAGCGGGCCCTG
GGTCGCTGGTGAAGGATLCTTCCCAAGACCGGTGAGGGTCTCGTGAAGCTCAGGCGCC
CTGCAGCAGGGCGTGACACCTCTCCGGCTGCTCTCAGCTCTCGAGGACTACCTCTCTC
AGCAGCGTGTGACGCTGCTGCCCTCCAGCAGCTTGGGACCCAGGACTCATCTGCAACGTG
AATCAAGAGCCAGGAAACACCAAGGTGGACAGAGAGTTGAGCGCAATCTTGTGACAAA
ACTCACACATGCCACCGTGGCCAGCACCTGAAGCTCTGGGGGGAGCCGTCACTTCCCTC
TTCCCCCAAAAGCCAGGACACCGCTCATGATCTCCCGGACCCGTGAGGTACATAGGCTG
GTGCTGAGCGTGAGCCACAGAGCCCTGAGGTCAAGTTCACCTGGTACTGTGAGCGCGCTG

重鎖完全長 DNA の配列。

CAGTCGGTGGAGGAGTCCGGGGGTCGCTGGTCAAGCTCGGGACACCCCTGACACTCACCT
TGACAGCTCTCTGGAAATGACCTCAGTATGATTTCAATGGGCTGGGTCCGCGAGGCTCCA
GGAGAGGGCTGGAAATACATCGAGTGGATTAAGTATAGTGTGGTATCGACATTAACGCGAGC
TGGCGGAAGGGCGGATTCACCATCTCCAACCTCGACCGGTGGAGCTGAAGATCACCT
AGTCGGAATCGAGGACACGGGCCACTATTCTGTGCCAGAGAGACTCCTGTTAATATAT
TATTTGGACATTTGGGGCCAGGGGACCTCGTCAAGCTCGAGCGCTCCACCAAGGGC
CCATCGGTCTTCCCGCTGGACCTCTCCAGAGGACCTCTGGGGGACACAGCGGGCCCTG
GGTCGCTGGTGAAGGATLCTTCCCAAGACCGGTGAGGGTCTCGTGAAGCTCAGGCGCC
CTGCAGCAGGGCGTGACACCTCTCCGGCTGCTCTCAGCTCTCGAGGACTACCTCTCTC
AGCAGCGTGTGACGCTGCTGCCCTCCAGCAGCTTGGGACCCAGGACTCATCTGCAACGTG
AATCAAGAGCCAGGAAACACCAAGGTGGACAGAGAGTTGAGCGCAATCTTGTGACAAA
ACTCACACATGCCACCGTGGCCAGCACCTGAAGCTCTGGGGGGAGCCGTCACTTCCCTC
TTCCCCCAAAAGCCAGGACACCGCTCATGATCTCCCGGACCCGTGAGGTACATAGGCTG
GTGCTGAGCGTGAGCCACAGAGCCCTGAGGTCAAGTTCACCTGGTACTGTGAGCGCGCTG

【図 10－1】

Ab10重鎖完全長タンパク質の配列。

QVQLVESGGGVVQPRSLRLSCAASGFTPSMTYSMGWVRQAPGKGLYIGWISYGGTAYYA
SSAKGRFTISRDNKNTLYLQMSSLRAEDTAVYFCARETFPVNYLIDWGQTLVTVSSAS
TKGPSVFPFLAPSSKTSGGTAALGCLVKDYPPPEVTVSWNSGALTSVGHVTFPAVLQSGSL
YLSLSSVTVFPSSSLGTQYICNVNHHKPSMTVDKRVPEKSCDKHTPCCPAPELLGGPS
VFLPPPKPDITLMSRTPEVTVCVVVDVSHEDPEVKFNWVVDGVEVHNAKTKPREBOYAST
YRVSVLTVLHQDLNKGRIYKCKVSNKALPAPIEKTIISKAGQPREPQVYITLPPSREMT
KNQVSLCLVKGFPSDIAVWESNGQPENNYIKTIPVLDSDQSFFLYSKLTVDKSRWQQ
GNVFCSVNHEALHNHYTQKSLSLSPGK (配列番号 9 4)

可変領域重鎖タンパク質の配列。

QVQLVESGGGVVQPRSLRLSCAASGFTPSMTYSMGWVRQAPGKGLYIGWISYGGTAYYA
SSAKGRFTISRDNKNTLYLQMSSLRAEDTAVYFCARETFPVNYLIDWGQTLVTVSS
(配列番号 9 3)

可変領域重鎖タンパク質の配列。CDR1：太字；CDR2：下線；CDR3：イタリック体。

QVQLVESGGGVVQPRSLRLSCAASGFTPSMTYSMGWVRQAPGKGLYIGWISYGGTAYYA
SSAKGRFTISRDNKNTLYLQMSSLRAEDTAVYFCARETFPVNYLIDWGQTLVTVSS
(それぞれ配列番号 9 8、9 9、1 0 0)

可変領域重鎖 DNA の配列。CDR1：太字；CDR2：下線；CDR3：イタリック体。

CAGGTACAGCTGGTGAGGTCTGGTGGAGCGTGGTCCAGCCTGGGAGGTCCCTGAGAGCTC
TCTGTGACGCTCTGGATACCACTTCAGTATGTAATTCATGGGCTGGGTCCGCGAGGCTCCA
CGAGGAGGGGCTGGAAATACATCGAGTGGATTAAGTATAGTGTGGTATCGACATCAAGCTC
AGCAGCGCTAAGGGCGGATTCACCATCTCCAAGAGCAATTCAGAGAACACGCTGTACCTG
CAAAATGCTAGCCTGAGAGCGGAGGACCGCTGTGTATTAATCTGTGCTAGAGAGACTCT
GTTAATTAATCTACTTGGACAATTTGGGGCCAGGTAACCTCGTCAACGCTCTGAGC
(配列番号 2 9 3)

重鎖完全長 DNA の配列。

CAGGTACAGCTGGTGAGGTCTGGTGGAGCGTGGTCCAGCCTGGGAGGTCCCTGAGAGCTC
TCTGTGACGCTCTGGATACCACTTCAGTATGTAATTCATGGGCTGGGTCCGCGAGGCTCCA
CGAGGAGGGGCTGGAAATACATCGAGTGGATTAAGTATAGTGTGGTATCGACATCAAGCTC
AGCAGCGCTAAGGGCGGATTCACCATCTCCAAGAGCAATTCAGAGAACACGCTGTACCTG
CAAAATGCTAGCCTGAGAGCGGAGGACCGCTGTGTATTAATCTGTGCTAGAGAGACTCTCT
GTTAATTAATCTACTTGGACAATTTGGGGCCAGGTAACCTCGTCAACGCTCTGAGGCGCTCC
ACCAAGGGCCCATGCGTCTTCCCGCTGACACCTCTCCCAAGAGCACTCTGGGGGCACAC
CGCGGCCCTGGGCTCGCTGGTCAAGGACTACTTCCCGGAAACGGTGAACGCTGTGTGGAAC
TCAGGCGCCCTGACACAGCGGCGTGACACTCTTCGCGGCTGTCTCAAGTCTCTCAGGACTC
TACTCCTCCAGCAGCGTGGTGAACGCTGCTCCCTCCAGAGCTTGGGACCCAGACCTACATC
TGCACCTGTAATCCAGAGCCGACACCAAGTGGACAGAGAGGTTGGAGCCAAATCT
TGTGAAGAACTCAACATGCCACCGTGCCGACCACTGAACTCTCGGGAGGACCGTCA
GCTCTCCTCTTCCCCCAAAGCCAAAGACACCTCATGATCTCCCGGACCCGTGAGGTC
ACATCGCTGGTGGTGAACGTGACCCAGAGAACCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTATCGTG

【図 9－2】

GAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCGCGGGAGGAGCAGTACGCCAGCAGCTACCGTGTG
GTCAAGCTCCTCACCGTCTCTGACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGATACAAGTGCAGAG
GTCTTCCACCAAGAGCCTCCGAGCCCGCATCGAGAAACCATCTCCAAGGCCAAGGGCAG
CTCCGAGAACCCAGAGTGTACACCTCTGCTCATCCGAGGAGAGTGAACCAAGAACAG
GTCAAGCTGACCTGCTGCTGGTCAAGGCTCTTATCCAGGACCATCGCCGTGGATCGGAG
AGCAATGGGAGCGCGGAGAACCACTCAAGACCAAGCCTCCGCTGCTGGACTCGACGGC
TCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTACCGCTGGACAGAGGACGAGTGGAGCAGGAGGACCTCT
TCTCATGCTCGGTGATGATGAGGCTCTGCAACCACTACACGACAGAGAGCCTCTCTC
CTGCTCCGGGTAATGA (配列番号 2 8 4)

軽鎖完全長タンパク質の配列。

AYDMTQTPASVSAAGVGTVTIKQASENIGSYLAWYQQKPGQPELLIYRASTLASGVPS
RFGSGSGGTDFTLTISGVECAADATYYCQQGYNSENLDAFPGGTEVVVKRITVAAPSVFI
PPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREARVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSYSLSS
TLTLKADYEKKHVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (配列番号 8 2)

可変領域軽鎖タンパク質の配列。

AYDMTQTPASVSAAGVGTVTIKQASENIGSYLAWYQQKPGQPELLIYRASTLASGVPS
RFGSGSGGTDFTLTISGVECAADATYYCQQGYNSENLDAFPGGTEVVVKR
(配列番号 8 1)

可変領域軽鎖タンパク質の配列。CDR1：太字；CDR2：下線；CDR3：イタリック体。

AYDMTQTPASVSAAGVGTVTIKQASENIGSYLAWYQQKPGQPELLIYRASTLASGVPS
RFGSGSGGTDFTLTISGVECAADATYYCQQGYNSENLDAFPGGTEVVVKR
(それぞれ配列番号 8 5、8 6、8 7)

可変領域軽鎖 DNA の配列。CDR1：太字；CDR2：下線；CDR3：イタリック体。

GCCTATGATATGACCCAGACTCCAGCCTCGGTGCTGCAAGCTGTGGAGGACAGTCAACC
ATCAAGTGCAGGCGCAGTGAGAACATTTGGTAGTACTTAGCTGGTATCAGCAGAAACCA
GGGAGCCTCCCGAATCCTGATCTACAGGGCGTCCACTCTGGGATCTGGGTCCCATCG
CGGTTCAAAGGCAGTGGATCTGGGACACAGTTCACCTTCACCATCAGCGCGTGGAGTGT
GCCATATCTCCCACTTACTACTCTCAACAGGGTTAATAGTGGAGAACTTGATAATGCT
TTCCGCGAGGAGCCAGAGTGGTGGTCCAAAGCTAGCGGTGCTCCACCTCTGTCTTCACT
TTCGCGCACTTGATGAGCAGTTGAATCTGGAATGCTGCTGTGTGTGCGCTGTGAAT
AACTTCTATCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAGGTTGGAATAACGCCCTCCAATCGGCT
AACTCCAGGAGAGTGTACAGAGAGCAGACAGCAGGACAGCAGCTCAGGCTCAGCAGC
ACCTTGAAGCTGAGCAAGACAGACTGACAGAAACCAAGTCTTAGCCTTCGGAAGTCAAC
CATCAGGCGCTGAGCTCCCGCTCAAGAGGCTTCAACAGGGGAGAGTTAG
(配列番号 2 8 1)

軽鎖完全長 DNA の配列。

GCCTATGATATGACCCAGACTCCAGCCTCGGTGCTGCAAGCTGTGGAGGACAGTCAACC
ATCAAGTGCAGGCGCAGTGAGAACATTTGGTAGTACTTAGCTGGTATCAGCAGAAACCA
GGGAGCCTCCCGAATCCTGATCTACAGGGCGTCCACTCTGGGATCTGGGTCCCATCG
CGGTTCAAAGGCAGTGGATCTGGGACACAGTTCACCTTCACCATCAGCGCGTGGAGTGT
GCCATATCTCCCACTTACTACTCTCAACAGGGTTAATAGTGGAGAACTTGATAATGCT
TTCCGCGAGGAGCCAGAGTGGTGGTCCAAAGCTAGCGGTGCTCCACCTCTGTCTTCACT
TTCGCGCACTTGATGAGCAGTTGAATCTGGAATGCTGCTGTGTGTGCGCTGTGAAT
AACTTCTATCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAGGTTGGAATAACGCCCTCCAATCGGCT
AACTCCAGGAGAGTGTACAGAGAGCAGACAGCAGGACAGCAGCTCAGGCTCAGCAGC
ACCTTGAAGCTGAGCAAGACAGACTGACAGAAACCAAGTCTTAGCCTTCGGAAGTCAAC
CATCAGGCGCTGAGCTCCCGCTCAAGAGGCTTCAACAGGGGAGAGTTAG
(配列番号 2 8 2)

【図 10－2】

GACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCGCGGGAGGAGCAGTACGCCAGCAGC
TACCGTGTGCTGACGCTCCTCACCGTCTGACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGATAC
AAGTGCAGGCTCTCCAAAGAGCCTCCGAGCCCACTGAGAGAAACCATCTCCAAGAGCC
AAGGGCAGCCCGAGAGAACACAGGTGTACACCTCGCCCATCCCGGAGGAGAGTACCC
AGAGAACAGGTGACGCTGACCTGCTGGTCAAAGGCTTCTATCCAGAGGACATCGCGGTG
GACTGGAGAGCATGGCGAGCGGAGAACATACAGAGCACCGCTCCCGTCTCGGAC
TCCGACGCTCCTCTTCTCTACAGCAGCTCACCGTGGACAAAGAGCAGGTGGCAGCAG
GGGAGCGTCTTCTCATGCTCGGTGATGATGAGGCTCTGCAACCACTACAGCAGGAG
AGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAATGA (配列番号 2 9 4)

軽鎖完全長タンパク質の配列。

AYDMTQSPSSLASVGDRTVITQASENIGSYLAWYQQKPGKVPKLLIYRASTLASGVPS
RFGSGSGGTDFTLTISLQPEDVATYYCQQGYNSENLDAFPGGTKVEIKR
PPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREARVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSYSLSS
TLTLKADYEKKHVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (配列番号 9 2)

可変領域軽鎖タンパク質の配列。

AYDMTQSPSSLASVGDRTVITQASENIGSYLAWYQQKPGKVPKLLIYRASTLASGVPS
RFGSGSGGTDFTLTISLQPEDVATYYCQQGYNSENLDAFPGGTKVEIKR
(配列番号 9 1)

可変領域軽鎖タンパク質の配列。CDR1：太字；CDR2：下線；CDR3：イタリック体。

AYDMTQSPSSLASVGDRTVITQASENIGSYLAWYQQKPGKVPKLLIYRASTLASGVPS
RFGSGSGGTDFTLTISLQPEDVATYYCQQGYNSENLDAFPGGTKVEIKR
(それぞれ配列番号 9 5、9 6、9 7)

可変領域軽鎖 DNA の配列。CDR1：太字；CDR2：下線；CDR3：イタリック体。

GCCTATGATATGACCCAGCTCTCCATCTCCCTGTCTGCTATCTGTAGGAGACAGAGTCACC
ATCACTTGCAGGGCAGTGAGAACATTTGGTAGTACTTAGCTGGTATCAGCAGAAACCA
GGGAAAGTCCCTAAGCTCCTGATCTATAGGGCTTCCACTTGGCATCTGGGGTCCCATCT
CGTTTCAAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTCACCTCCACATCAGCAGCGCTCGAGCCT
GAAGATGTGCAACTTATTACTGTCAACAGGGTTACAATAGTGAGAACTTGATAATGCT
TTCGCGGAGGAAACAGAGTGGAAATCAAAGTACGCTGGCTGTGCTGTGCTGTGAAT
TTCGCGGAGGAAACAGAGTGGAAATCAAAGT (配列番号 2 9 1)

軽鎖完全長 DNA の配列。

GCCTATGATATGACCCAGCTCTCCATCTCCCTGTCTGCTATCTGTAGGAGACAGAGTCACC
ATCACTTGCAGGGCAGTGAGAACATTTGGTAGTACTTAGCTGGTATCAGCAGAAACCA
GGGAAAGTCCCTAAGCTCCTGATCTATAGGGCTTCCACTTGGCATCTGGGGTCCCATCT
CGTTTCAAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTCACCTCCACATCAGCAGCGCTCGAGCCT
GAAGATGTGCAACTTATTACTGTCAACAGGGTTACAATAGTGAGAACTTGATAATGCT
TTCGCGGAGGAAACAGAGTGGAAATCAAAGTACGCTGGCTGTGCTGTGCTGTGAAT
AACTTCTATCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAGGTTGGAATAACGCCCTCCAATCGGCT
AACTCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAGGAGCAGCAGCTCAGGCTCAGCAGC
ACCTTGAAGCTGAGCAAGACAGACTGACAGAAACCAAGTCTTAGCCTTCGGAAGTCAAC
CATCAGGCGCTGAGCTCCCGCTCAAGAGGCTTCAACAGGGGAGAGTTAG
(配列番号 2 9 2)

【図 15－1】

Ab15

重組完全長タンパク質の配列。

QSVESGGRLLVTPGTPLTLCTVSGIDLSSYMIWVRQAPGKGLVIGI IWSGGTTYATW
AKGRFTISKSTSTVDLQITSPITTEDAATYFCAAGGGS IYDVGPGTLVTVSSASTKGPSV
PFLAPSSEKSTSGGTALGLVKDYPPFPYTVSNWGSALTSGVHTFPAVLGGSSGLYLSLSV
VTVPSSSLGTQTYICNVNHPKSNTKVDKVRPKSKDKHTCPCCPAPPELLGGPSVPLFPF
KPKDTLMI SRTPFVTCVVDVSHBDEPVKFNWYDGVVHNNAKTKPREBQYASTYEVVSV
LTVLHQDMLNKEVTKVSNKALPAFIKTSIKSAKQPREPQVYTLPPSRBMTKNQVSL
TCLVKGYPYPSDIAVEWSGQFPNNYKTFPVLDSGGSFPLYSKLTVDKSRWQQNVFSC
SVNHEALRNHYTKQSLSLSPGK (配列番号 1 4 4)

可変領域重組タンパク質の配列。

QSVESGGRLLVTPGTPLTLCTVSGIDLSSYMIWVRQAPGKGLVIGI IWSGGTTYATW
AKGRFTISKSTSTVDLQITSPITTEDAATYFCAAGGGS IYDVGPGTLVTVSS (SEQ ID
配列番号 1 4 3)

可変領域重組タンパク質の配列。CDR1：太字；CDR2：下線；CDR3：
イタリック体。

QSVESGGRLLVTPGTPLTLCTVSGIDLSSYMIWVRQAPGKGLVIGI IWSGGTTYATW
AKGRFTISKSTSTVDLQITSPITTEDAATYFCAAGGGS IYDVGPGTLVTVSS (SEQ ID
それぞれ配列番号 1 4 8、1 4 9、1 5 0)

可変領域重組 DNA の配列。CDR1：太字；CDR2：下線；CDR3：イタリ
ック体。

CAGTCGGTGGAGGAGTCGCGGGGTGCGCTGGTCACGCCTGGGACACCCCTGACACTCAC
TGCAAGCTCTCTGGAATGACACTGAGTAGCTATGCAATGATCTGGGTCCGCGAGGCTCCA
GGAAAGGGCTGGAAATACATCGAATCATTTGGAGTGGTGGCACTTACTAGCGAGCTGG
CGGAAGGCGGATTCACCATCTCCAAAGCTCGACACGCTGGAGTGC AATTCACAGT
CCGACAACCGAGGAGCGGGCCACTATTCTGTGCGCAGGTGGTGGTAGTATTATGAT
GTTTGGGGCCGGGACACCTGTGTCACCGTCTGGAGCGCTCTCCAAAGGGCCCATGGCTC
TTCGCCCTGGACCCCTCTCTCAAGAGCACTCTGGGGGCA CAGCGGCCCTGGCTGCTCTG
CTCHAGAGCTACTTCCCGCAACCGTGGACGGTGTCTGGAACTCAGGGGCCCTGACAGCG
GGCTGGACACTTCCCGGCTGGTCTTCAKGTCTCGAGGACTTACTCTCTGACAGCTGTG
GTGAACGCTGCCCTCCAGCGAGCTTGGGCAACCGCACTACATCTGCAACGTTGAATCAACAG
CCGACACCAACCAAGGTGGCAAGAGAGTCTGAGCCCAAATCTTGTGACAAACTCACACA
TGCCCCACGGTCCCGACACCTGAACTCTCTGGGGGAGCGTCACTCTCTCTCTCCCCCA
AAACCCAGAGACGCTCTCATGATCTCCCGGACCCCTCGAGGCTACATGGTGGTGGTGAG
GTGACCCACAGAGCTCTGAGTCAAGTCACTGGTAGCTGAGGACCGGCTGGAGGTGAT
AATGCCAAGACAAAGCCCGCGAGGAGCGATGACCGCAAGTACCGTGTGGTCAAGCTC

重組完全長 DNA の配列。

CAGTCGGTGGAGGAGTCGCGGGGTGCGCTGGTCACGCCTGGGACACCCCTGACACTCAC
TGCAAGCTCTCTGGAATGACACTGAGTAGCTATGCAATGATCTGGGTCCGCGAGGCTCCA
GGAAAGGGCTGGAAATACATCGAATCATTTGGAGTGGTGGCACTTACTAGCGAGCTGG
CGGAAGGCGGATTCACCATCTCCAAAGCTCGACACGCTGGAGTGC AATTCACAGT
CCGACAACCGAGGAGCGGGCCACTATTCTGTGCGCAGGTGGTGGTAGTATTATGAT
GTTTGGGGCCGGGACACCTGTGTCACCGTCTGGAGCGCTCTCCAAAGGGCCCATGGCTC
TTCGCCCTGGACCCCTCTCTCAAGAGCACTCTGGGGGCA CAGCGGCCCTGGCTGCTCTG
CTCHAGAGCTACTTCCCGCAACCGTGGACGGTGTCTGGAACTCAGGGGCCCTGACAGCG
GGCTGGACACTTCCCGGCTGGTCTTCAKGTCTCGAGGACTTACTCTCTGACAGCTGTG
GTGAACGCTGCCCTCCAGCGAGCTTGGGCAACCGCACTACATCTGCAACGTTGAATCAACAG
CCGACACCAACCAAGGTGGCAAGAGAGTCTGAGCCCAAATCTTGTGACAAACTCACACA
TGCCCCACGGTCCCGACACCTGAACTCTCTGGGGGAGCGTCACTCTCTCTCTCCCCCA
AAACCCAGAGACGCTCTCATGATCTCCCGGACCCCTCGAGGCTACATGGTGGTGGTGAG
GTGACCCACAGAGCTCTGAGTCAAGTCACTGGTAGCTGAGGACCGGCTGGAGGTGAT
AATGCCAAGACAAAGCCCGCGAGGAGCGATGACCGCAAGTACCGTGTGGTCAAGCTC

【図 16－1】

Ab16

重組完全長タンパク質の配列。

QSVBPGGRLLVTPGTPLTLCTVSGFSLNNYATWVRQAPGKLEWIGI IGSIGTTYAS
NAKGRFFISKSTSTVDLKIISPTTEDATYFCARDAGVTVDGYGYPNINWPGTLVTVSS
ASTKGPSVFLAPSSEKSTSGGTALGLVKDYPPFPYTVSNWGSALTSGVHTFPAVLGQS
GLYLSLSVVTVFPSSISGTQTYICNVNHPKSNTKVDKVRPKSKDKHTCPCCPAPPELLGG
PSVPLFPFKPKDTLMI SRTPFVTCVVDVSHBDEPVKFNWYDGVVHNNAKTKPREBQYA
STYRVSVLTVLHQDMLNKEVTKVSNKALPAFIKTSIKSAKQPREPQVYTLPPSRREE
MTKNQVSLTCLVKGYPYPSDIAVEWSGQFPNNYKTFPVLDSGGSFPLYSKLTVDKSRW
QQNVFSCSVNHEALRNHYTKQSLSLSPGK (配列番号 1 5 4)

可変領域重組タンパク質の配列。

QSVBPGGRLLVTPGTPLTLCTVSGFSLNNYATWVRQAPGKLEWIGI IGSIGTTYAS
NAKGRFFISKSTSTVDLKIISPTTEDATYFCARDAGVTVDGYGYPNINWPGTLVTVSS
(配列番号 1 5 3)

可変領域重組タンパク質の配列。CDR1：太字；CDR2：下線；CDR3：
イタリック体。

QSVBPGGRLLVTPGTPLTLCTVSGFSLNNYATWVRQAPGKLEWIGI IGSIGTTYAS
NAKGRFFISKSTSTVDLKIISPTTEDATYFCARDAGVTVDGYGYPNINWPGTLVTVSS
(それぞれ配列番号 1 5 8、1 5 9、1 6 0)

可変領域重組 DNA の配列。CDR1：太字；CDR2：下線；CDR3：イタリ
ック体。

CAGTCGGTGGAGGAGTTCGCGGGGTGCGCTGGTCACGCCTGGGACACCCCTGACACTCAC
TGCAACCGTCTCTGGAATTCCTCCATAAFACTATGCAATGATCTGGGTCCGCGAGGCTCCA
GGAAAGGGCTGGAGTGGATCGGGATCATTTGGTAGTATTTGGTACACATCTAGCGAGGCG
TGGGCGAAAGGCTGATTCTTCTATCTCCAAAGCTCGACCACTGTGGATCTGAATAATCAAT
AGTCGACACCAAGAGGACACGCGCCACTATTCTGTGCGACAGAGTGTGGCGGTATCTGTT
GATGGTTATGGCTACTATTAACTCTGGGGCCGAGGACCCCTGTCACCGTCTCGAGCG
(配列番号 3 5 3)

重組完全長 DNA の配列。

CAGTCGGTGGAGGAGTTCGCGGGGTGCGCTGGTCACGCCTGGGACACCCCTGACACTCAC
TGCAACCGTCTCTGGAATTCCTCCATAAFACTATGCAATGATCTGGGTCCGCGAGGCTCCA
GGAAAGGGCTGGAGTGGATCGGGATCATTTGGTAGTATTTGGTACACATCTAGCGAGGCG
TGGGCGAAAGGCTGAGTGGATCGGGATCATTTGGTAGTATTTGGTACACATCTAGCGAGGCG
AGTCGACACCAAGAGGACACGCGCCACTATTCTGTGCGACAGAGTGTGGCGGTATCTGTT
GATGGTTATGGCTACTATTAACTCTGGGGCCGAGGACCCCTGTCACCGTCTCGAGCG
GCTTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCGCTGGACACCTCTCCAAAGGACACTCTCGG
GGCACACGCGCCCTGGGCTGGTGTCAAGAGCTACTTCTCCCGAACCGGTGACGGTGTGG
TGGAACTCAGGCGCCCTGACACGCGGGGTGACAGCACTTCCGCGCTGTCTCACAGTCTCCA
GACCTCTACTCTCTCGAGAGCGTGGAGCTGCGCTCCAGCGTGTGGAGCAACAGAC
TACTACTCGCAAGTGAATCACAGAGCCGACACCAAGAGGAGTGAAGAGGAGTGGAGCC
AAATCTTGTGACAAATCTCACAGCTACCGCGCTGGCGAGCACTGAACTCTCGGGGGGA
CGGTCACTCTCTCTCTCTCCCCCAAAACCCAGAGGACCCCTGATGATCTCCGAGACCCCT
GAGGTACATGCTGGTGGTGGAGCTGAGCTGAGGACCGCAAGACCTGAGGTCAAGTTCAACTGG

【図 15－2】

CTCACCGTCCCTGCACCCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTCAAGTGCAAGGTCTCCAA
AAAGCCCTCCACGCCCCCATCGAGAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGCGAGCCCGAGAA
CACAGGTTGTACACCCCTGCCCATCCCGGAGGAGATGACCAAGAACAGGTTCAGCCTG
ACTGCTGTGTCAAAAGGCTTCTATCCAGCGACATCCCGTGGAGTGGAGAGCAATGGG
CAGCCGGAGAACCAACTACAAAGCCACGCTCCCGTGTCTGGATCTCCGACGCTCTTCTTC
CTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAAGCAGGTGGCGAGCAGGGGAAAGTCTTCTCATGC
TCCGTGATGCATGAGGCTCTGCGCAACCACTACACCGAGAGAGGCTCTCCCTGTCTCCG
GGTAATAG (配列番号 3 4 4)

重組完全長タンパク質の配列。

AAVLQTTPSPVSAAVGDTVTIKQSSQSVYKNNYLSWYQKPGPPKLLIYDASNLPSGV
PSRFSGSGSGTQFTLTIISGVQDDAATYICLGYDDDDTNGFGGTEVVVKRVAAPSVF
IFPFSDEQLKSGTASVVCLLANNPYPREAKVQWKVINALQSGNSQSVTEQDSKDYSL
STLTLKADYKEHKVYACEVTHQGLSSPVTKSPNRGEC (配列番号 1 4 2)

可変領域重組タンパク質の配列。

AAVLQTTPSPVSAAVGDTVTIKQSSQSVYKNNYLSWYQKPGPPKLLIYDASNLPSGV
PSRFSGSGSGTQFTLTIISGVQDDAATYICLGYDDDDTNGFGGTEVVVKR (SEQ ID
配列番号 1 4 1)

可変領域重組タンパク質の配列。CDR1：太字；CDR2：下線；CDR3：イ
タリック体。

AAVLQTTPSPVSAAVGDTVTIKQSSQSVYKNNYLSWYQKPGPPKLLIYDASNLPSGV
PSRFSGSGSGTQFTLTIISGVQDDAATYICLGYDDDDTNGFGGTEVVVKR (SEQ ID
それぞれ配列番号 1 4 5、1 4 6、1 4 7)

可変領域重組 DNA の配列。CDR1：太字；CDR2：下線；CDR3：イタリッ
ク体。

GCAGCCGTGCTGACCCAGACACCATCGCCCGTGTCTGCAGCTGTGGGAGACAGTCAACC
ATCAAGTCCCACTCGAGTCAGAGCTGTTTATAAGAAACAACCTATCTATCCTGGTATCAGCAG
AAACCAAGGCGAGCTCCCAAGCTCCTGATCTATGATGCATCCAATCTCCATCTGGGGTCC
CCATCAAGCGTTCAGCGGACGTGGATCTGGGACACAGTCACTCTCAACATCAGCGCGGTG
CAGTGTGACGATGCTGCCACTTACTACTGTCTAGCGGATTTATGATGATGATATGATAAT
GTTTGGCGCGGGGAGACCGAGGTGGTGTCAAAAGTACGTTGCTGACCACTCTGTCTCTG
ATCTTCCCGCACTTGTATGACAGTGTGAATCTGTGATGCTGTGTCGCTGCTG
AATAAATCTTCTATCCAGAGAGGCGAAAGTACAGTGGAGGTGGATACAGCCGCTCAATCG
GTTAACTCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGAGCAGCAGGACAGCACTACAGCCTCAGCCTCAGC
AGCACCTTGACGCTGAGCAAGCAGACTACAGGAAACACAAAGTCTACGCTGCGAAGTC
ACCCATCAGGCGCTGAGCTCGCCGCTCAAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTATG
(配列番号 3 4 1)

重組完全長 DNA の配列。

GCAGCCGTGCTGACCCAGACACCATCGCCCGTGTCTGCAGCTGTGGGAGACAGTCAACC
ATCAAGTCCCACTCGAGTCAGAGTGTTTATAAGAAACAACCTATCTATCCTGGTATCAGCAG
AAACCAAGGCGAGCTCCCAAGCTCCTGATCTATGATGCATCCAATCTCCATCTGGGGTCC
CCATCAAGCGTTCAGCGGACGTGGATCTGGGACACAGTCACTCTCAACATCAGCGCGGTG
CAGTGTGACGATGCTGCCACTTACTACTGTCTAGCGGATTTATGATGATGATATGATAAT
GTTTGGCGCGGGGAGACCGAGGTGGTGTCAAAAGTACGTTGCTGACCACTCTGTCTCTG
ATCTTCCCGCACTTGTATGACAGTGTGAATCTGTGATGCTGTGTCGCTGCTG
AATAAATCTTCTATCCAGAGAGGCGAAAGTACAGTGGAGGTGGATACAGCCGCTCAATCG
GTTAACTCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGAGCAGCAGGACAGCACTACAGCCTCAGCCTCAGC
AGCACCTTGACGCTGAGCAAGCAGACTACAGGAAACACAAAGTCTACGCTGCGAAGTC
ACCCATCAGGCGCTGAGCTCGCCGCTCAAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTATG
(配列番号 3 4 2)

【図 16－2】

TACGTGGACGGGCTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCCGGAGGAGCAGTACGCC
AGCAGTACCGTGTGGTCAAGGTCTCTCACCGTCTCGCAGGAGCTGGCTGAATGGCAG
GAGTACAAAGTCAAGGTCTCCAAACAAAGCCCTCCAGCCCCCATCGAGAAACCATCTCC
AAAGCCAAAGGGCAGCCCGGAGAACACAGGTGTACACCTCCGCCCATCCCGGGAGGAG
ATGACCAAGAACAGAGTCAAGTGCAGCTGCTGCTGTCAAAAGGCTTCTATCCAGCGACATC
GGTGTGAGTGGAGGAGCAATGGTCCGCGGAGACACACTACAGACCCGCTCCCGT
CTGAGCTCGGACGCGCTCTTCTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAGAGCAGAGGTG
CAGCAGGGGAAAGCTCTTCTCATGCTCCGTGATCATGAGGCTCTGACAAACCACTACAGC
CAGAGAGGCTCTCCCTGTCTCCGGTAATGA (配列番号 3 5 4)

重組完全長タンパク質の配列。

ALVMTQTPSSTSEFPVGTVTINQASQNIQNDLSWYQKPGPPPELLIYSTSKLATGVPK
RFSGSRSGTQFTLTIISDLCDAAATYICLGYVYSISDDGNAPGGTEVVVKRVAAPSVF
IFPFSDEQLKSGTASVVCLLANNPYPREAKVQWKVINALQSGNSQSVTEQDSKDYSL
STLTLKADYKEHKVYACEVTHQGLSSPVTKSPNRGEC (配列番号 1 5 2)

可変領域重組タンパク質の配列。

ALVMTQTPSSTSEFPVGTVTINQASQNIQNDLSWYQKPGPPPELLIYSTSKLATGVPK
RFSGSRSGTQFTLTIISDLCDAAATYICLGYVYSISDDGNAPGGTEVVVKR (SEQ ID
配列番号 1 5 1)

可変領域重組タンパク質の配列。CDR1：太字；CDR2：下線；CDR3：イ
タリック体。

ALVMTQTPSSTSEFPVGTVTINQASQNIQNDLSWYQKPGPPPELLIYSTSKLATGVPK
RFSGSRSGTQFTLTIISDLCDAAATYICLGYVYSISDDGNAPGGTEVVVKR (SEQ ID
それぞれ配列番号 1 5 5、1 5 6、1 5 7)

可変領域重組 DNA の配列。CDR1：太字；CDR2：下線；CDR3：イタリ
ック体。

GCCTCGTGTGATGACCCAGACTCCATCTCCACGTCTGAAACAGTGGGAGGACAGTCAACC
ATCAATTGCGAGGCTAGTCAAGATATTGGTAACGACCTATCTCGTGATCAGCAGAAACCA
GGGAGCTCCCGAGCTCTTAATCTACTGATCTAGGTGTTATAGTTATGATGATGGTAAAT
GCGTTCAGTGGCAGCAGACTGGGACACAGTTCACTCTCAACATCAGCAGCCTGAGGTGT
GACGATGCTGCCACTTACTACTGTCTAGGTGTTTATAGTTATATATTAGTATGATGGTAAAT
GCTTTCGGCGAGGGGACCGAGGTGGTGGTCAAAAGTACGTTGCTGACCACTGTCTCTC
ATCTTCCCGCACTCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAACCTGCGCTGTGTGTGTGCTGCTG
AATACCTCTTACCGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAGAGGTGATACGCTCTCAATCG
GGTAACTCCAGAGAGGTGTACAGAGCAGGACAGGACAGCACTTACAGCTCAGCTCAGC
AGCACCTGACGCTGAGCAAGCAGACTACAGGAAACACAAAGTCTACGCGTGAAGTC
ACCCATCAGGCGCTGAGCTCGCCGCTCAAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTATG
(配列番号 3 5 2)

重組完全長 DNA の配列。

GCCTCGTGTGATGACCCAGACTCCATCTCCACGTCTGAAACAGTGGGAGGACAGTCAACC
ATCAATTGCGAGGCTAGTCAAGATATTGGTAACGACCTATCTCGTGATCAGCAGAAACCA
GGGAGCTCCCGAGCTCTTAATCTACTGATCTAGGTGTTATAGTTATGATGATGGTAAAT
GCGTTCAGTGGCAGCAGACTGGGACACAGTTCACTCTCAACATCAGCAGCCTGAGGTGT
GACGATGCTGCCACTTACTACTGTCTAGGTGTTTATAGTTATATATTAGTATGATGGTAAAT
GCTTTCGGCGAGGGGACCGAGGTGGTGGTCAAAAGTACGTTGCTGACCACTGTCTCTC
ATCTTCCCGCACTCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAACCTGCGCTGTGTGTGTGCTGCTG
AATACCTCTTACCGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAGAGGTGATACGCTCTCAATCG
GGTAACTCCAGAGAGGTGTACAGAGCAGGACAGGACAGCACTTACAGCTCAGCTCAGC
AGCACCTGACGCTGAGCAAGCAGACTACAGGAAACACAAAGTCTACGCGTGAAGTC
ACCCATCAGGCGCTGAGCTCGCCGCTCAAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTATG
(配列番号 3 5 2)

【図 19-1】

Ab19

重組完全長タンパク質の配列。

QSVBASGGRLLVMPGGSLTLTCTASGFSLSITYMWSVVRQAPGKLEWIGDIYFSNEETNYA
TWA~~KGR~~FTTISKSTSTVDLINVISPTT~~ED~~TATYFCAR~~GSPDVE~~IAIDMWGGQTLVTVSS
KGP~~SVF~~PLAPSSSKTSOGTAAIGLKVDPYEP~~PTV~~SNWNSALTS~~GH~~TFPAVLGSSGLY
SLSSVTVYVPS~~SS~~LTQTYIYNVNHKPSMTKVDKRV~~EP~~SKSDKHTTCCP~~PA~~PELLG~~SP~~SV
FLPFPK~~PD~~LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGV~~EH~~NAKT~~PR~~EBQYASTY
RVVSVLTVLHQDLN~~IK~~SKYKCKVSNKALPAPIEKTIISKAKQPREPQVTLTP~~PS~~REEMTK
NQSLTCLVKGYP~~SD~~IAV~~EW~~SN~~SG~~QPN~~NN~~YK~~TT~~PPVLSDSGSFFLYSKLTVDKSRWQ~~Q~~
NVFSCSV~~M~~REALNH~~HY~~TQSLSLSPGK (配列番 184)

可変領域重鎖タンパク質の配列。

QSVBASGGRLLVMPGGSLTLTCTASGFSLSITYMWSVVRQAPGKLEWIGDIYFSNEETNYA
TWA~~KGR~~FTTISKSTSTVDLINVISPTT~~ED~~TATYFCAR~~GSPDVE~~IAIDMWGGQTLVTVSS
(配列番 183)

可変領域重鎖タンパク質の配列。CDR1：太字；CDR2：下線；CDR3：イ
タリック体。

QSVBASGGRLLVMPGGSLTLTCTASGFSLSITYMWSVVRQAPGKLEWIGDIYFSNEETNYA
TWA~~KGR~~FTTISKSTSTVDLINVISPTT~~ED~~TATYFCAR~~GSPDVE~~IAIDMWGGQTLVTVSS
(それぞれ配列番号188、189、190)

可変領域重鎖DNAの配列。CDR1：太字；CDR2：下線；CDR3：イタ
リック体。

CAGTCGGTGGAGGCGCTCGGGGGTCTGCTCGGTCA~~GC~~CTGGAAGATCCCTGACATCA~~CC~~
TGCA~~CAG~~CGCTCGGAATCTCCCTCAGTACTCACTAGTGTCTGGTCCGCACGCGTCCA
GGGAAGGGCGTGGAA~~T~~GGATCGGAGACATTTATTTAGTAATGAGAAACAACTACGCG
ACCTGGGCGAAAGGCGGATTTACCATCTCCAAAACCTGCACACGCTGGATCTGAATGTC
ATCAGTCCGACAA~~CC~~CGAGAGACACGGCCACTATTTCTGTGCAAGAAGTGTCTCTGATGTT
GAGATGTCTATAGATATGTGGGCGACGGGACCCCTGTGACCGTCTCGAGC
(配列番号383)

重組完全長DNAの配列。

CAGTCGGTGGAGGCGCTCGGGGGTCTGCTCGGTCA~~GC~~CTGGAAGATCCCTGACATCA~~CC~~
TGCA~~CAG~~CGCTCGGAATCTCCCTCAGTACTCACTAGTGTCTGGTCCGCACGCGTCCA
GGGAAGGGCGTGGAA~~T~~GGATCGGAGACATTTATTTAGTAATGAGAAACAACTACGCG
ACCTGGGCGAAAGGCGGATTTACCATCTCCAAAACCTGCACACGCTGGATCTGAATGTC
ATCAGTCCGACAA~~CC~~CGAGAGACACGGCCACTATTTCTGTGCAAGAAGTGTCTCTGATGTT
GAGATGTCTATAGATATGTGGGCGACGGGACCCCTGTGACCGTCTCGAGC
(配列番号383)

【図 20-1】

Ab20

重組完全長タンパク質の配列。

EVQLV~~ES~~GGGLVQPGGSLRLSCAASGPTVSTY~~M~~WSVVRQAPGKLEWVGDYFSNEETNY
ATSA~~KGR~~FTTISR~~DN~~SNITLYLQ~~M~~NSLRADTAVYCAR~~GSPDVE~~IAIDMWGGQTLVTVSS
ASTKGP~~SVF~~PLAPSSSKTSOGTAAIGLKVDPYEP~~PTV~~SNWNSALTS~~GH~~TFPAVLGSS
GLYSLSSVTVYVPS~~SS~~LTQTYIYNVNHKPSMTKVDKRV~~EP~~SKSDKHTTCCP~~PA~~PELLG
PSVFLPFPK~~PD~~LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGV~~EH~~NAKT~~PR~~EBQYAS
TYRVVSVLTVLHQDLN~~IK~~SKYKCKVSNKALPAPIEKTIISKAKQPREPQVTLTP~~PS~~RE
MTNQVSLTCLVKGYP~~SD~~IAV~~EW~~SN~~SG~~QPN~~NN~~YK~~TT~~PPVLSDSGSFFLYSKLTVDKSRW
QQNVFSCSV~~M~~REALNH~~HY~~TQSLSLSPGK (配列番号194)

可変領域重鎖タンパク質の配列。

EVQLV~~ES~~GGGLVQPGGSLRLSCAASGPTVSTY~~M~~WSVVRQAPGKLEWVGDYFSNEETNY
ATSA~~KGR~~FTTISR~~DN~~SNITLYLQ~~M~~NSLRADTAVYCAR~~GSPDVE~~IAIDMWGGQTLVTVSS
(配列番号193)

可変領域重鎖タンパク質の配列。CDR1：太字；CDR2：下線；CDR3：イ
タリック体。

EVQLV~~ES~~GGGLVQPGGSLRLSCAASGPTVSTY~~M~~WSVVRQAPGKLEWVGDYFSNEETNY
ATSA~~KGR~~FTTISR~~DN~~SNITLYLQ~~M~~NSLRADTAVYCAR~~GSPDVE~~IAIDMWGGQTLVTVSS
(それぞれ配列番号198、199、200)

可変領域重鎖DNAの配列。CDR1：太字；CDR2：下線；CDR3：イタ
リック体。

GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCCAGCCTGGGGGTCCCTGAGACTC
TCCTGTGCAGCCTCTGGATTCA~~CC~~GTCACTCACTCGATGAGCTGGGTCCGTCA~~GC~~GT
CCAGGGAGGGGCTGGAGTGGGTGGAGACATTTACTTTAGTATGAGGAACAACTAC
CGACCA~~CG~~CGGAAGGCGGATTCA~~CC~~ATCTCCAGAGACAATTCGAAGAACACCTGTGAT
CTTCAATGAACACCGCTGAGAGCTGAGAGCACTGCTGTGTATTACTGTGTGAGAGGTCT
CTGATGTTGAGATGTCTATAGATGTGTGGGGCGAAGGACCCCTGGTCA~~GC~~GTCTCGAGC
(配列番号393)

重組完全長DNAの配列。

GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCCAGCCTGGGGGTCCCTGAGACTC
TCCTGTGCAGCCTCTGGATTCA~~CC~~GTCACTCACTCGATGAGCTGGGTCCGTCA~~GC~~GT
CCAGGGAGGGGCTGGAGTGGGTGGAGACATTTACTTTAGTAATGAGAAACAACTAC
CGACCA~~CG~~CGGAAGGCGGATTCA~~CC~~ATCTCCAGAGACAATTCGAAGAACACCTGTGAT
TGAACCTCAGGCGCCTTGACACAGCGCGTGCACACCTTCCGCGCTGTCTTCA~~GC~~GTCTCA
GACTCTACTCTCCCTCAGCAGGTGGTGAACCGTGCCTCAGCAGCTTGGGCA~~CC~~CGAACCC
TACATCTCAACCTGTGAATCA~~CA~~AGCCCAAGCAACAGGTGGAACAAGAGAGTTGAGGCC
AAATCTTGTGACAAACTCA~~CA~~CTGCCACCGTGGCCAGCACTTGAGCTCTGGGGGA
CCGTCA~~GC~~TCTCTCTTCCCCCAAACCCAGAGACACCTCATGATGCTCTCGGACCCCT
GAAGTCATCATGGTGGTGGAGCTGGAGCCAGCAACAGCACTGAGGTCAAGTTCAACTGG

【図 19-2】

GGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACGCACGACGCTAC
CGTGGTGGTCA~~GC~~GTCTCTCA~~CC~~GTCTCTGCACACGAGACTGGCTGAATGGCAAGGATCAAG
TGCAAGGTCTTCCAA~~CA~~AGAGCCCTCCAGCCCCCATCGAGAAACCATCTTCAAGGCCAA
GGCAGACCCCAAGAGACACAGAGTGTACCCCTGCCCATCCCGAGAGAGATGACGAG
AACCAGGTCA~~GC~~GTGA~~CT~~GTCTGTCAAAAGGCTTCTATCCACAGCAACGCTCCGTGGAG
TGGGAGACCAATGGGAGCGCGGAGAACACTACAAGACCAGCGCTCCCGTCTGAGCTCC
GACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCCTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGG
AAGCTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTGTGCACAACCACTACAACGACAGAGGC
CTCTCCCTGTCTCCGGGTAAATGA (配列番号384)

重組完全長タンパク質の配列。

AAVLITQTPSPVSAAVGGTVSISQSSQNVYKNLYLSWYQKPGQP~~PK~~LLIYKASTLASGV
PSRFKSGSGSDT~~FT~~LTISDVQDA~~AA~~ITYCAGYSSSDNAPGGT~~EV~~VVIR (配列番号182)

可変領域軽鎖タンパク質の配列。

AAVLITQTPSPVSAAVGGTVSISQSSQNVYKNLYLSWYQKPGQP~~PK~~LLIYKASTLASGV
PSRFKSGSGSDT~~FT~~LTISDVQDA~~AA~~ITYCAGYSSSDNAPGGT~~EV~~VVIR (配列番号181)

可変領域軽鎖タンパク質の配列。CDR1：太字；CDR2：下線；CDR3：イ
タリック体。

AAVLITQTPSPVSAAVGGTVSISQSSQNVYKNLYLSWYQKPGQP~~PK~~LLIYKASTLASGV
PSRFKSGSGSDT~~FT~~LTISDVQDA~~AA~~ITYCAGYSSSDNAPGGT~~EV~~VVIR (配列番号185、186、187)

可変領域軽鎖DNAの配列。CDR1：太字；CDR2：下線；CDR3：イタ
リック体。

GCGCCTGCTGACCCAGACTCCATCTCCCGTGTCTGCAGCTGTGGGAGGCACAGTCAGC
ATCAGTGTCCAGTCCAGTCA~~GA~~ATGTTTATAGAACAACTATTATCTGTATACGACG
AAACCAAGGCGAGCTCCCAAGCTCCTGATCTCAAGGCTCTCGCATCTGGGTC
CCATCGCGGTTCAAAGGCAGTGGATCTGGGACAGATTCACTCTCA~~CC~~ATCAGCAGCTG
CAGTGTGAGCTGCTGCCACTTACTACTGTGCAAGCGGTATAGTAGTAGTGATAAT
GCTTTCCGGGAGGAGCGAGGTGGTGTCA~~AA~~CGT (配列番号381)

重組完全長DNAの配列。

GCGCCTGCTGACCCAGACTCCATCTCCCGTGTCTGCAGCTGTGGGAGGCACAGTCAGC
ATCAGTGTCCAGTCCAGTCA~~GA~~ATGTTTATAGAACAACTATTATCTGTATACGACG
AAACCAAGGCGAGCTCCCAAGCTCCTGATCTCAAGGCTCTCGCATCTGGGTC
CCATCGCGGTTCAAAGGCAGTGGATCTGGGACAGATTCACTCTCA~~CC~~ATCAGCAGCTG
CAGTGTGAGCTGCTGCCACTTACTACTGTGCAAGCGGTATAGTAGTAGTGATAAT
GCTTTCCGGGAGGAGCGAGGTGGTGTCA~~AA~~CGTAAAGCTAAGTGTGGTGTGCTGCTCTTC
ATCTTCCGCCCACTGATGAGCAGATTGAAATCTGGAATGCTCTGTGTGTGCTGCTG
AATAACTCTGATCCCGAGGAGGCCAAAGTACAGTGAAGTGGATACGCCCTCCATCG
GGTAACTCCACGGAGAGTGTCAAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACTACAGCCTCAGC
AGCAACCTGACGCTGAGCAAGACAGACTACGAGAAACACAAGTCTACGCTCGGAAGTC
ACCATCAGGCGCTGAGCTCGCCGTCA~~AA~~AGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTAG
(配列番号382)

【図 20-2】

TAOSTGGACGGGCTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGAGGAGCAGTACGCC
AGCAO~~GT~~ACCGGTGGGTCA~~GC~~GTCTCA~~CC~~GTCTGCACAGGACTGGCTGAATGGCAAG
GAGTACAAGTCAAGGTCTCCAA~~CA~~AGGCCCTCCAGCCCCATCGAGAAACCATCTCC
AAAGCCAAAGGGCGAGCCCGGAGAACACAGGTGTACA~~CC~~TGCCCCCATCCCGGGAGGAG
ATGACCAAGAACAGGTCA~~GC~~GTGACCTGCTGGTCAAGGCTCTTATCTGAGTAGTGAATA
GCGGTGGAGTGGGAGGCAATGGGAGCGGAGAGAACACTACAGCAACACCGCTCCCGTG
TGGACTCCGAGCGGTCTCTTCTCTCTACAGCAGCTCAAGGTCAGAGAGAGGTGG
CAGCAGGGGAAGCTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACACCACTACAGC
CAGAAGAGCTCTCCCTGTCTCGGGTAAATGA (配列番号394)

重組完全長タンパク質の配列。

DIQMTQSPSSLSASVGRVITTCQSSQNVYKNLYLSWYQKPGKVP~~KL~~LIYKASTLASGV
PSRFSGSGSDT~~FT~~LTISLQPEDVATTYCAGY~~TS~~SSDNAPGGGT~~KV~~EIR (配列番号192)

可変領域軽鎖タンパク質の配列。

DIQMTQSPSSLSASVGRVITTCQSSQNVYKNLYLSWYQKPGKVP~~KL~~LIYKASTLASGV
PSRFSGSGSDT~~FT~~LTISLQPEDVATTYCAGY~~TS~~SSDNAPGGGT~~KV~~EIR (配列番号191)

可変領域軽鎖タンパク質の配列。CDR1：太字；CDR2：下線；CDR3：イ
タリック体。

DIQMTQSPSSLSASVGRVITTCQSSQNVYKNLYLSWYQKPGKVP~~KL~~LIYKASTLASGV
PSRFSGSGSDT~~FT~~LTISLQPEDVATTYCAGY~~TS~~SSDNAPGGGT~~KV~~EIR (それぞれ配列番号195、196、197)

可変領域重鎖DNAの配列。CDR1：太字；CDR2：下線；CDR3：イタ
リック体。

GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCA~~CC~~
ATCACTTGCAGTCCAGTCAGAA~~TG~~TTTATAAGAA~~CA~~ACTTACTTATCTGGTATCAGCAG
AAACCAGGGAAGTCCCTAAGCTCCTGATCTATAAGGCTCCACTCTGGCATCTGGGTC
CCATCTCGTTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTCACTCTCACCATCAGCAGCGTC
CAGCCTCAAGAGGTGTGCACTTATTA~~CT~~GTGCGCGGTTATACCAATAGTAGTGATAAT
GCTTTCGGCGAGGACCAAGTGGAGTGGAAATGAGTACAGTCAAGTGGCTGACATCTCTTC
ATCTTCCGCCCATCTCGATGAGCAGTTGAAATCTGGAAGTGGCTTGTGTGTGCTGCTG
AATAACTTCTTACTCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGAAGTGGATTAACGCCCTCCAATCG
GGTAACTCCACGAGAGGTGTCAAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACTACAGCCTCAGC
AGCAACCTGACGCTGAGCAAGCAGACTACAGAGAAACAAAGTCTACGCCCTCGAAGTCT
ACCATCAGGCGCTGAGCTGCGCGTCA~~CA~~AGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTAG
(配列番号392)

重組完全長DNAの配列。

GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCA~~CC~~
ATCACTTGCAGTCCAGTCAGAA~~TG~~TTTATAAGAA~~CA~~ACTTACTTATCTGGTATCAGCAG
AAACCAGGGAAGTCCCTAAGCTCCTGATCTATAAGGCTCCACTCTGGCATCTGGGTC
CCATCTCGTTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTCACTCTCACCATCAGCAGCGTC
CAGCCTCAAGAGGTGTGCACTTATTA~~CT~~GTGCGCGGTTATACCAATAGTAGTGATAAT
GCTTTCGGCGAGGACCAAGTGGAGTGGAAATGAGTACAGTCAAGTGGCTGACATCTCTTC
ATCTTCCGCCCATCTCGATGAGCAGTTGAAATCTGGAAGTGGCTTGTGTGTGCTGCTG
AATAACTTCTTACTCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGAAGTGGATTAACGCCCTCCAATCG
GGTAACTCCACGAGAGGTGTCAAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACTACAGCCTCAGC
AGCAACCTGACGCTGAGCAAGCAGACTACAGAGAAACAAAGTCTACGCCCTCGAAGTCT
ACCATCAGGCGCTGAGCTGCGCGTCA~~CA~~AGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTAG
(配列番号392)

【図 2 1 - 1】

Ab21

重組完全長タンパク質の配列。

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTVSNYAVGWVRQAPGKLEWVGIIGRNGNTWYA
SSARGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRADTAVYYCARGTSVAYTVFNIGPGLTVTVS
SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQ
SGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNTKVDARVEPKSCDKHTHTCPCPAPELQ
GGSVFLFPKPKPTLMLSKRTPEVTCVVDVSHEDPEVKRMYVDGVEVHNACTKPREQY
ASTYRVSVLTITLQDLMKSEYKCKISWAKALPAIEKTIISKAGQPREPQYITLFPSE
EMTKNQVSLTCLVKGFPSDIAVEWESNGQPENNYKTTFPVLDSDGSFPLYSLKTVDKSR
WQQGNVFSFCVMEHRLAHNYTKSLSLSPK (配列番号 4 0 2)

重組完全長 DNA の配列。

GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCAGCCTGGGGGCTCCCTGAGACTC
TCCTGTGCAGCCTCTGGAGTTCACCGTCAGTAACATATGTCAGTGGCTGGGTCCGTGAGGCT
CCAGGGAAGGGCTGGAGTGGGTGGGAATCATTTGGTGGTAAATGGTAACACATGGTAAGCG
AGCTCTGCAAGAGGCGGATTCACCATCTCCAGAGACAATTCAGGAACACCCGTGATATCTT
CAATGAACAGCCTGAGAGCTGAGGACACTGCTGTGTATTACTCTGTCTAGNGGATATGAG
CTGATGTTGCTTACTAGTCTTTTAACTATCTGGGCGCCAGGACCTCTGTACCGTCTGG
AGCGCCTCCACAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCTCTCTCCAGAGCAGCTCT
GGGGGCACAGCGCCTGGGCTGCTGTGTCAAGGACTACTTCCCGAACCGGTGACGGTG
TCGTGGAACCTCAGGCGCCTGACACAGCGGCTGCACACCTTCCCGGCTGTCTTCAAGTCC
TCAGGACTCTACTTCCCTCAGCAGCGTGTGACCGTGGCTCCAGCAGCTTGGGCAACCCAG
ACCTGATCTCTGCAAGCTGATCAACAGCCGAGCAACACCAAGGTGGACGCGAGAGTGGAG
CCCAAACTTTGTGACAAACTCAACATGCGCCACCGTGGCCAGCAGCTGAACTCTGGGG
GGACCGTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAAACCAAGGACACCTCATGATCTCCCGGACC
CCTGAGGTACATGCGTGTGTGGAGCTGAGCCAGCAAGACCTGAGGTCAAGTTCACAC
TGGTACGTGACCGCGCTGAGGTGATATATGCCAAGACAAAGCCGGGAGGAGCAGTAC
GCAGCAGCTACCGGTGTGTGAGCGTCTCACCGCTCTGCAACAGGACTGGCTGAATGGC
AAGGAGTCAAGTCAAGTCAAGTCTCCACAAAGCCTTCCAGCCCATCAAGAAACCTTC
TCCAAAGCCAAAGGCGAGCCCGAGAACACACAGGTGACACCTGCGCCCATCCCGGAG
GAGATGACCAAGAACAGGTGAGCTGACCTGACCTGCTGGTCAAGGCTCTTATCCAGGAGC
ATCGCGGTGGAGTGGGAGGACAAATGGGCGAGCGGAGAACACACTACAAGACACCGCTCCC
GTGCTGAGCTCCGACCGCTCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGAACAGGACAGG
TGGCAGCAGGGGAAAGTCTTCTCATGCTCGTGTATGATGAGGCTCTGCAACACCATAC
ACGACGAGAGGCTCTCTCTGTCTCGGTTAAATGA (配列番号 4 0 4)

軽組完全長タンパク質の配列。

DIQMTQSPSTLSASVGRVYITCOASQSIYNLAWYQQKPKAKLLIYDASTLESQVPS
RFGSGSGSTETLTITSLQDDPATYTCQQGFTVSDINDAFPGGTKEIKRTVAAPSVFI
FPSPDEQLKSGTASVVCLLANNFYPRKAVQWIKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSYSLSS
TLTSLKADYEKHKVYACIEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (配列番号 4 0 1)

軽組完全長 DNA の配列。

GACATCCAGATGACCCAGTCTCCTTCCACCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACC
ATCACTTGCAGCGCAGTCAGAGCATTTACAGCAATCTTGCCTGGTATCAGCAGAAACCA
GGAAAGCCCTAAGCTCTGATCATGATGATCATCACTCTGGAATCTGGAGTCCCATCA

【図 2 1 - 2】

AGGTTTCAGCGGAGTGGATCTGGGACAGAGTACACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCT
GATGATTTTGCAACTTACTACTGCCAACAGGCTTTACTGTGTAGTGATATTGATAATGCT
TTGCGGCGAGGAAACCAAGGTGGAATCAAAAGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCTATC
TTCCGCGCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAACCTGCTCTGTGTGTGCTGCTGTAAT
AACTCTTATCCAGAGAGGCGAAAGTACAGTGAAGGTGGATAACGCCCTCCAACTCGGCT
AACTCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAGCAGGACAGCACTACAGCCTCAGCAGC
ACCCCTGACGCTGAGCAGAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCTGCGAAGTCAAC
CATCAGGCGCTGAGCTGCGCGTACAAAGAGGCTTCAACAGGGGAGAGTGTAG
(配列番号 4 0 3)

【図 2 3】

Fab2 Sequences

重組 F a b タンパク質の配列。

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTVSNYAVGWVRQAPGKLEWVGIIGRNGNTWYA
SSARGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRADTAVYYCARGTSVAYTVFNIGPGLTVTVS
SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQ
SGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNTKVDARVEPKSCDKHTHTCPCPAPELQ
(配列番号 4 0 8)

重組 F a b DNA の配列。

GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCAGCCTGGGGGCTCCCTGAGACTC
TCCTGTGCAGCCTCTGGAGTTCACCGTCAGTAACATATGTCAGTGGCTGGGTCCGTGAGGCT
CCAGGGAAGGGCTGGAGTGGGTGGGAATCATTTGGTGGTAAATGGTAACACATGGTAAGCG
AGCTCTGCAAGAGGCGGATTCACCATCTCCAGAGACAATTCAGGAACACCCGTGATATCTT
CAATGAACAGCCTGAGAGCTGAGGACACTGCTGTGTATTACTGTCTAGNGGATATGAG
CTGATGTTGCTTACTAGTCTTTTAACTATCTGGGCGCCAGGACCTCTGTACCGTCTGG
AGCGCCTCCACAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCTCTCTCCAGAGCAGCTCT
GGGGGCACAGCGCCTGGGCTGCTGTGTCAAGGACTACTTCCCGAACCGGTGACGGTG
TCGTGGAACCTCAGGCGCCTGACACAGCGGCTGCACACCTTCCCGGCTGTCTTCAAGTCC
TCAGGACTCTACTTCCCTCAGCAGCGTGTGACCGTGGCTCCAGCAGCTTGGGCAACCCAG
ACCTGATCTCTGCAAGCTGATCAAGCCGAGCAGACACCAAGGTGGAGCGGAGAGTGGAG
CCCAAACTTTGTGACAAACTCACTAG (配列番号 4 1 0)

軽組 F a b タンパク質の配列。

DIQMTQSPSTLSASVGRVYITCOASQSIYNLAWYQQKPKAKLLIYDASTLESQVPS
RFGSGSGSTETLTITSLQDDPATYTCQQGFTVSDINDAFPGGTKEIKRTVAAPSVFI
FPSPDEQLKSGTASVVCLLANNFYPRKAVQWIKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSYSLSS
TLTSLKADYEKHKVYACIEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (配列番号 4 0 7)

軽組 F a b DNA の配列。

GACATCCAGATGACCCAGTCTCCTTCCACCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACC
ATCACTTGCAGGCGCAGTCAGAGCATTTACAGCAATCTTGCCTGGTATCAGCAGAAACCA
GGAAAGCCCTAAGCTCTGATCATGATGATCATCACTCTGGAATCTGGAGTCCCATCA
AGGTTACGCGGAGTGAATCTGGGACAGAGTACACTCTCACCATCAGCAGCTGCAGCCT
GATGATTTTGCAACTTACTACTGCCAACAGGCTTTACTGTGTAGTGATATTGATAATGCT
TTGCGGCGAGGAAACCAAGGTGGAATCAACAGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCTATC
TTCCGCGCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAACCTGCTCTGTGTGTGCTGCTGTAAT
AACTCTTATCCAGAGAGGCGAAAGTACAGTGAAGGTGGATAACGCCCTCCAACTCGGCT
AACTCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAGGACAGCACTACAGCCTCAGCAGC
ACCCCTGACGCTGAGCAGAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCTGCGAAGTCAAC
CATCAGGCGCTGAGCTGCGCGTACAAAGAGGCTTCAACAGGGGAGAGTGTAG
(配列番号 4 0 9)

【図 2 2】

Fab1 Sequences

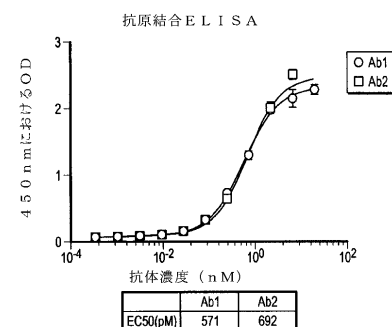
重組 F a b タンパク質の配列。

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTVSNYAVGWVRQAPGKLEWVGIIGRNGNTWYA
SSARGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRADTAVYYCARGTSVAYTVFNIGPGLTVTVS
SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQ
SGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNTKVDARVEPKSCDKHTHTCPCPAPELQ
(配列番号 4 0 6)

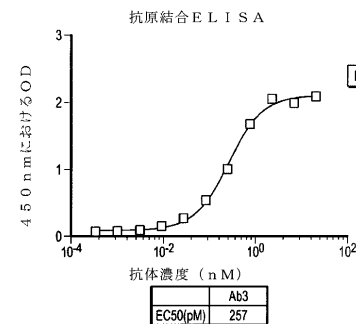
軽組 F a b タンパク質の配列。

DIQMTQSPSTLSASVGRVYITCOASQSIYNLAWYQQKPKAKLLIYDASTLESQVPS
RFGSGSGSTETLTITSLQDDPATYTCQQGFTVSDINDAFPGGTKEIKRTVAAPSVFI
FPSPDEQLKSGTASVVCLLANNFYPRKAVQWIKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSYSLSS
TLTSLKADYEKHKVYACIEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (配列番号 4 0 5)

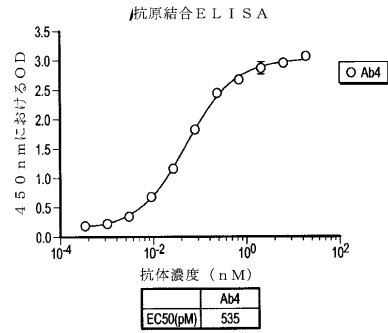
【図 2 4】



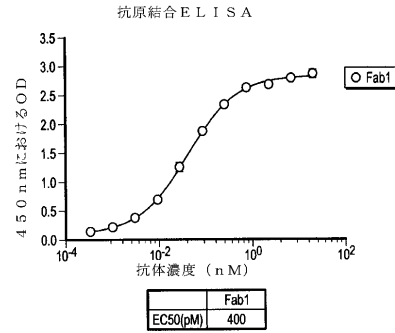
【図 2 5】



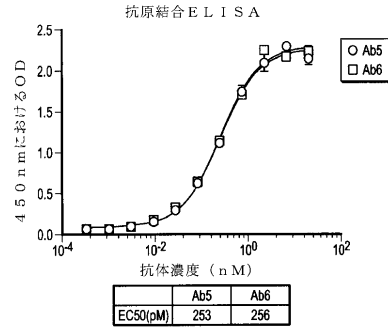
【図 26】



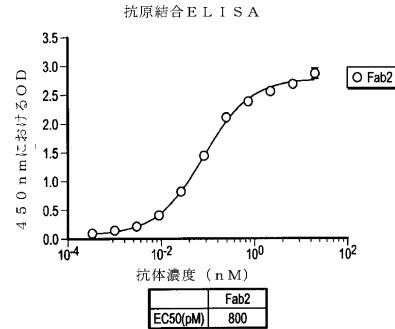
【図 28】



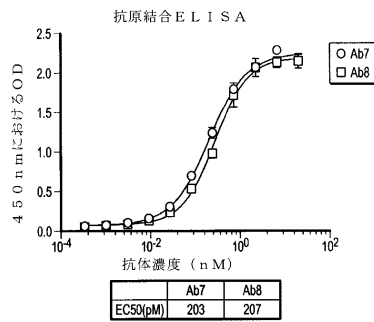
【図 27】



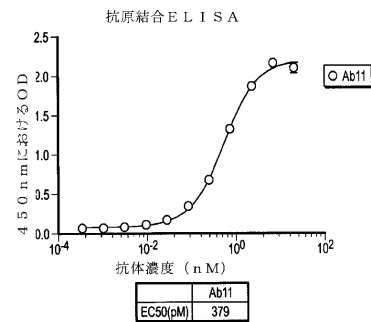
【図 29】



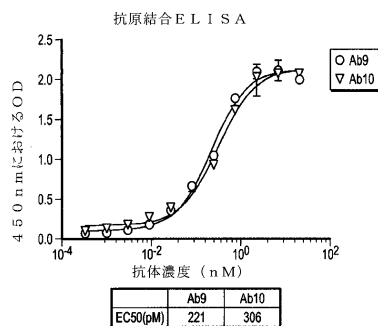
【図 30】



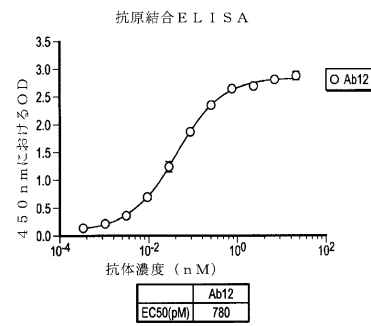
【図 32】



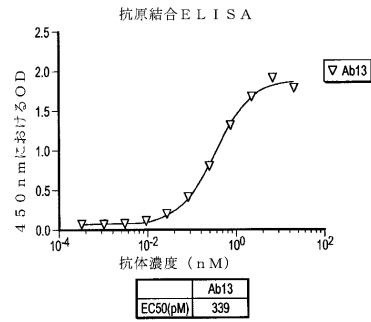
【図 31】



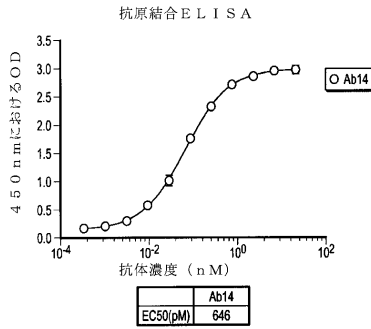
【図 33】



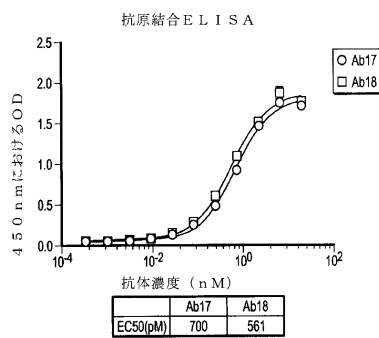
【図 3 4】



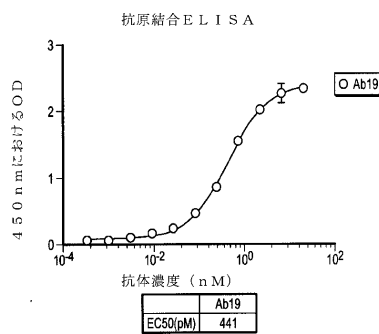
【図 3 5】



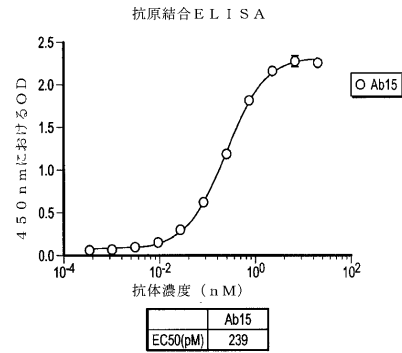
【図 3 8】



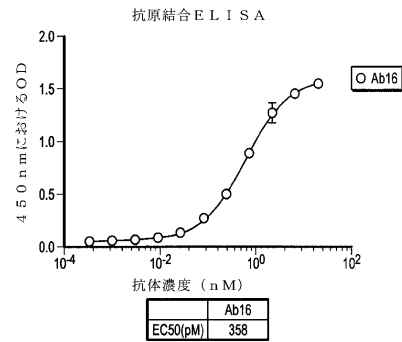
【図 3 9】



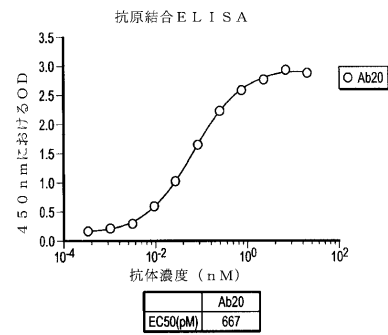
【図 3 6】



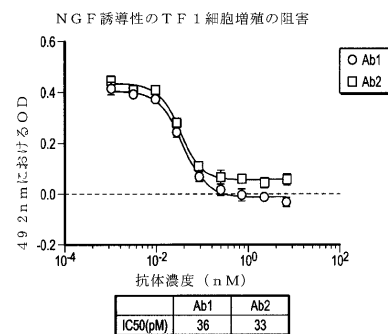
【図 3 7】



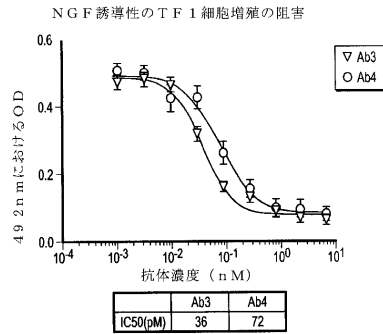
【図 4 0】



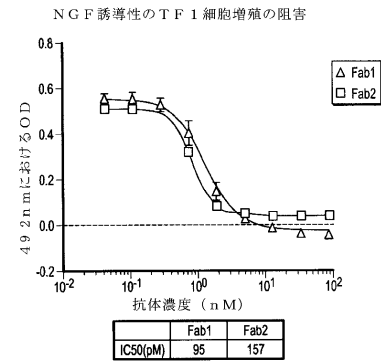
【図 4 1】



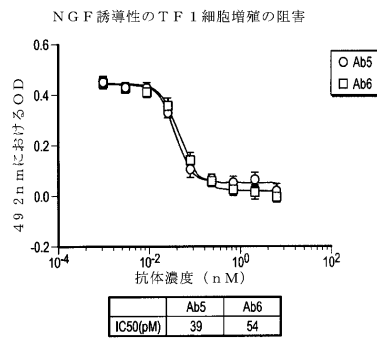
【図 4 2】



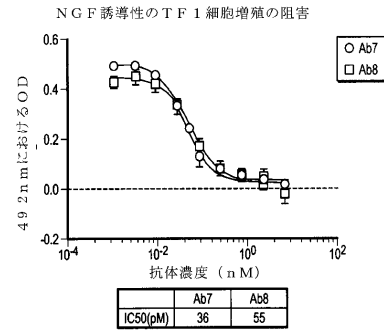
【図 4 4】



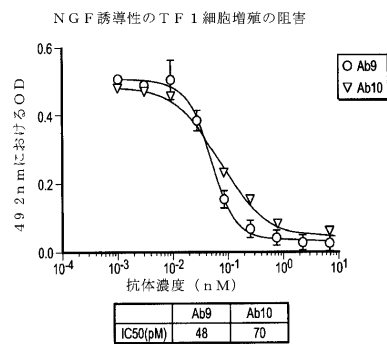
【図 4 3】



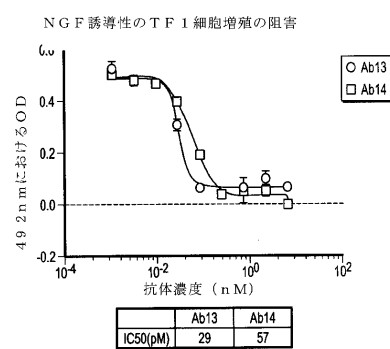
【図 4 5】



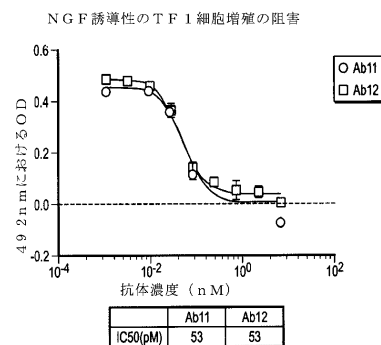
【図 4 6】



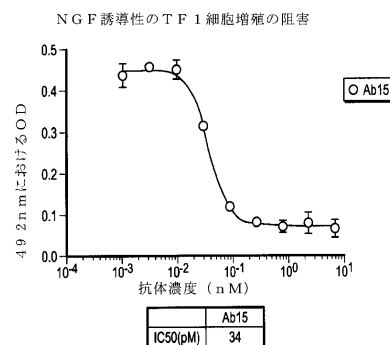
【図 4 8】



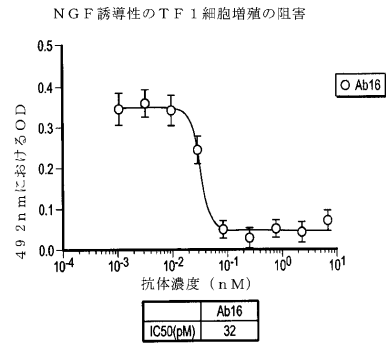
【図 4 7】



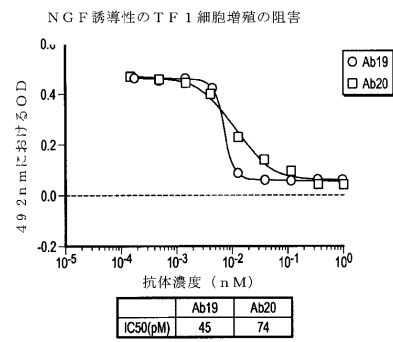
【図 4 9】



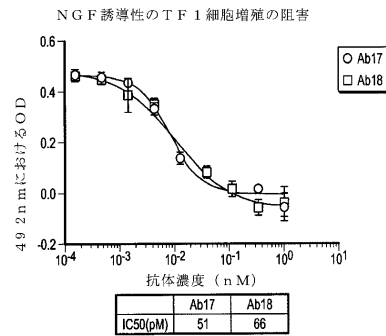
【図 5 0】



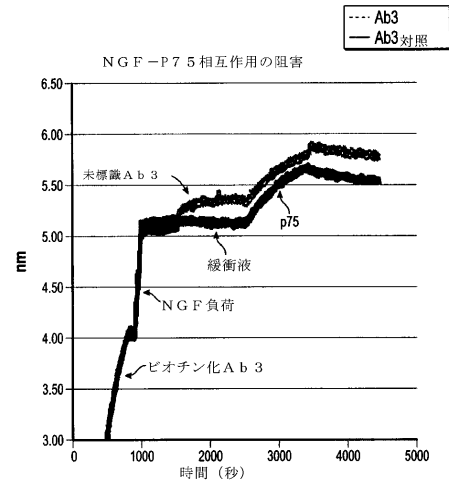
【図 5 2】



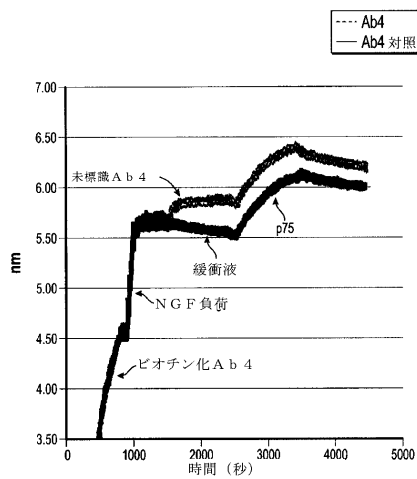
【図 5 1】



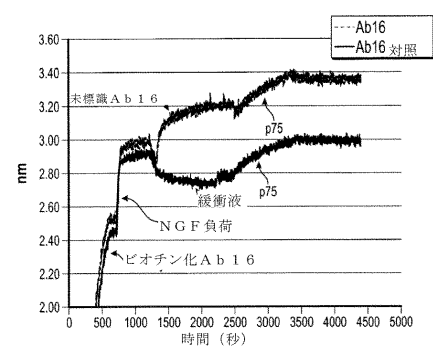
【図 5 3 A】



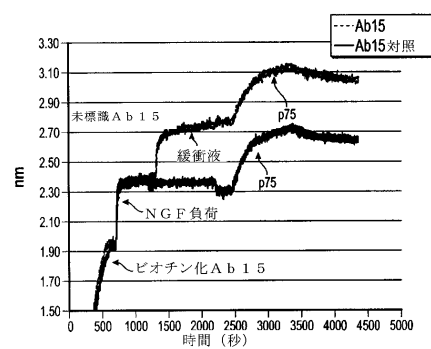
【図 5 3 B】



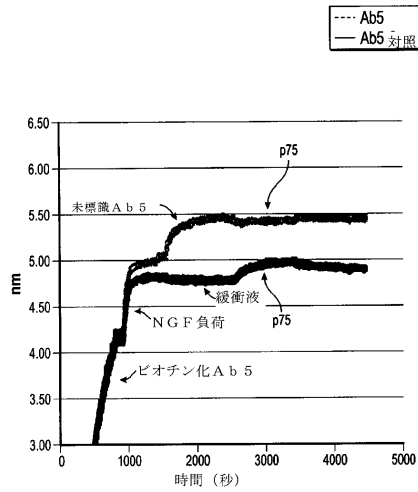
【図 5 4 B】



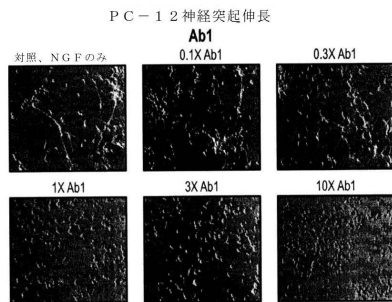
【図 5 4 A】



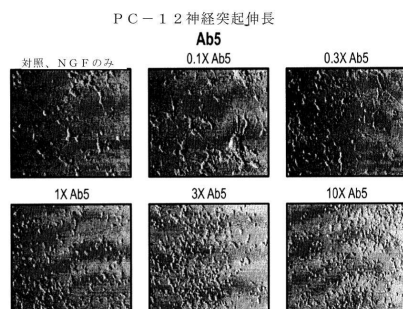
【図 5 5】



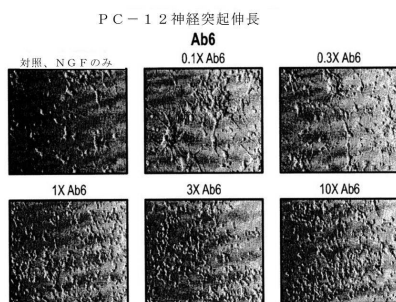
【図 5 6】



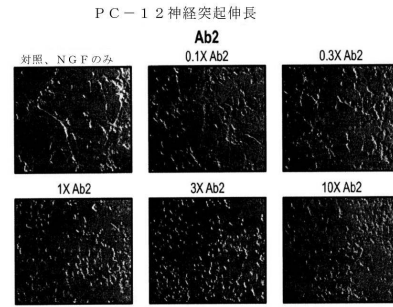
【図 5 9】



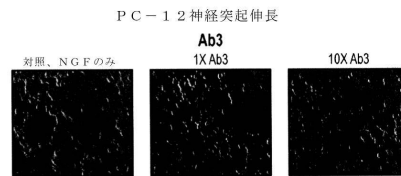
【図 6 0】



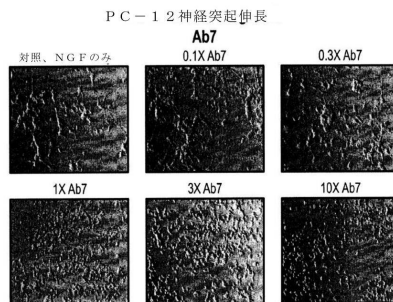
【図 5 7】



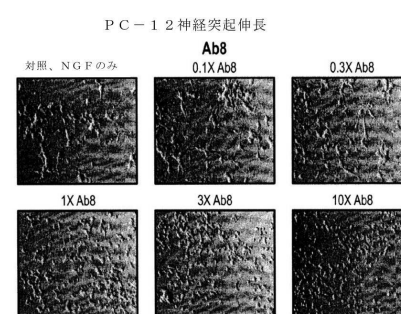
【図 5 8】



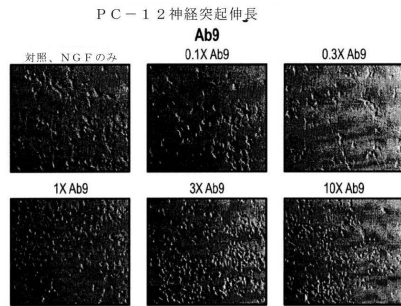
【図 6 1】



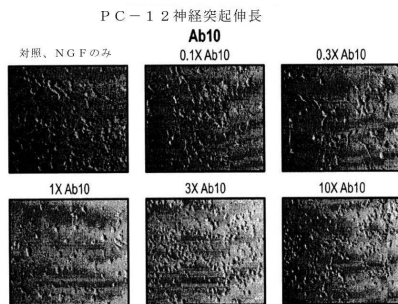
【図 6 2】



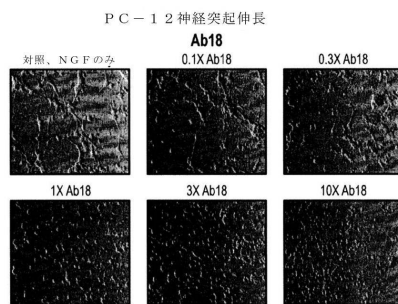
【図 6 3】



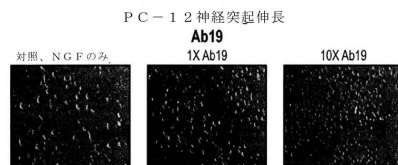
【図 6 4】



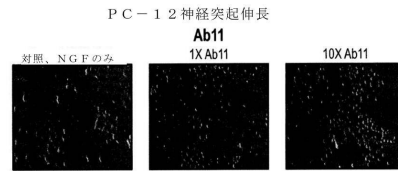
【図 6 8】



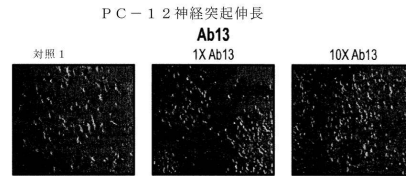
【図 6 9】



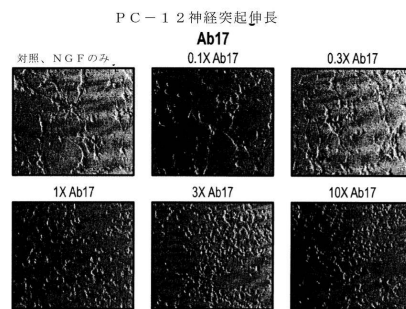
【図 6 5】



【図 6 6】

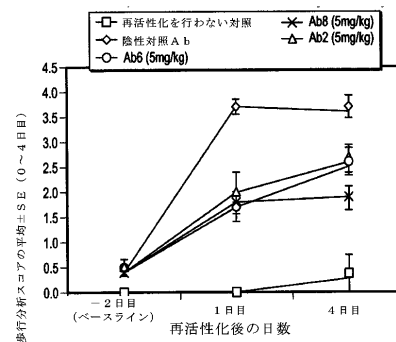


【図 6 7】



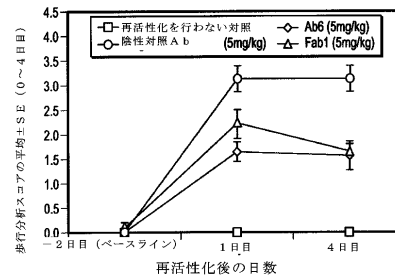
【図 7 0】

歩行分析により評価したAb6、Ab8およびAb2の疼痛における効果



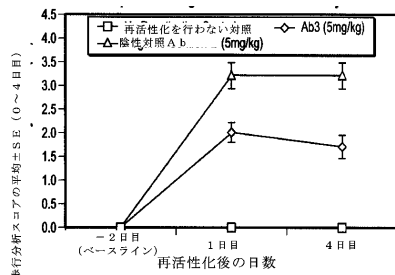
【図 7 1】

歩行分析により評価したAb6（完全長）またはFab1の疼痛における効果



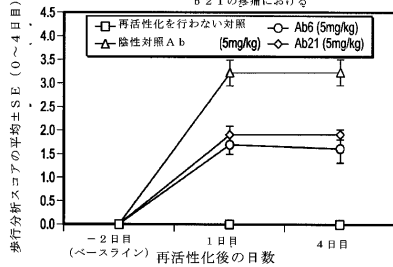
【図 7 2】

歩行分析により評価した p 7 5 を遮断しない A b 3 の疼痛における効果



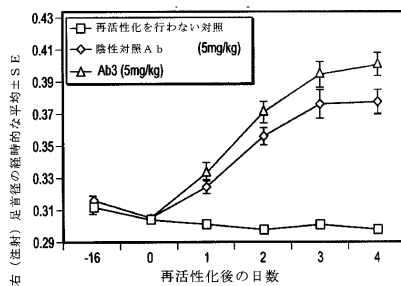
【図 7 3】

歩行分析により評価した哺乳類発現 A b 6 およびピキア (P i c h i a) 発現 A b 2 1 の疼痛における効果



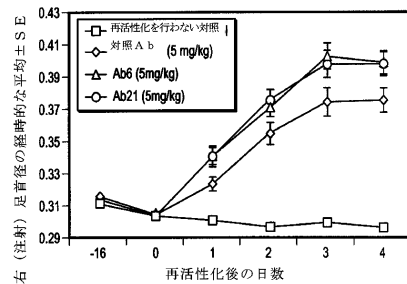
【図 7 6】

p 7 5 を遮断しない A b 3 の炎症における効果



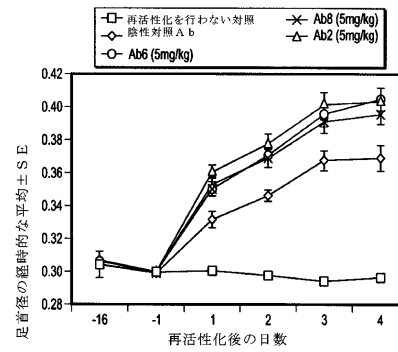
【図 7 7】

哺乳類発現 A b 6 およびピキア (P i c h i a) 発現 A b 2 1 の炎症における効果



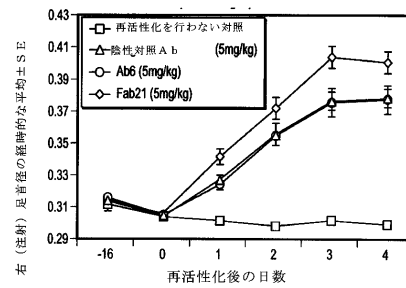
【図 7 4】

A b 6、A b 8 および A b 2 の炎症における効果



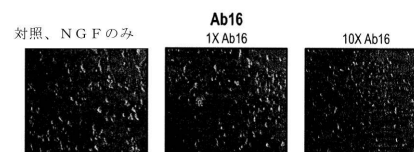
【図 7 5】

A b 6 (完全長) または F a b 1 の炎症における効果



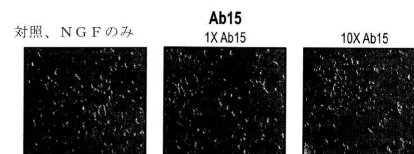
【図 7 8】

P C - 1 2 神経突起伸長



【図 7 9】

P C - 1 2 神経突起伸長



【配列表】

0006190723000001.app

フロントページの続き

(51)Int.Cl.

F I

C 1 2 N	5/10	(2006.01)	C 1 2 N	5/10	
C 0 7 K	16/46	(2006.01)	C 0 7 K	16/46	
C 1 2 P	21/08	(2006.01)	C 1 2 P	21/08	
A 6 1 K	39/395	(2006.01)	A 6 1 K	39/395	D
A 6 1 P	25/04	(2006.01)	A 6 1 K	39/395	N
A 6 1 P	29/00	(2006.01)	A 6 1 P	25/04	
A 6 1 P	19/02	(2006.01)	A 6 1 P	29/00	
A 6 1 P	25/06	(2006.01)	A 6 1 P	19/02	
A 6 1 K	49/00	(2006.01)	A 6 1 P	25/06	
A 6 1 K	45/00	(2006.01)	A 6 1 K	49/00	
A 6 1 P	43/00	(2006.01)	A 6 1 K	45/00	
A 6 1 K	9/19	(2006.01)	A 6 1 P	43/00	1 2 1
A 6 1 K	31/40	(2006.01)	A 6 1 K	9/19	
A 6 1 K	31/616	(2006.01)	A 6 1 K	31/40	
A 6 1 K	31/5415	(2006.01)	A 6 1 K	31/616	
A 6 1 K	31/196	(2006.01)	A 6 1 K	31/5415	
A 6 1 K	31/192	(2006.01)	A 6 1 K	31/196	
A 6 1 K	31/603	(2006.01)	A 6 1 K	31/192	
A 6 1 K	31/63	(2006.01)	A 6 1 K	31/603	
A 6 1 K	31/121	(2006.01)	A 6 1 K	31/63	
A 6 1 K	31/18	(2006.01)	A 6 1 K	31/121	
A 6 1 K	31/4188	(2006.01)	A 6 1 K	31/18	
G 0 1 N	33/53	(2006.01)	A 6 1 K	31/4188	
			A 6 1 K	39/395	C
			A 6 1 K	39/395	L
			G 0 1 N	33/53	Y

(72)発明者 コヴァチェヴィチ、ブライアン アール、

アメリカ合衆国、ワシントン、スノーホーミシュ、エスイー、トゥーハンドレッドアンドサーティ
サード ストリート 1 3 9 1 6

(72)発明者 ミッチェル、ダニエル エム、

アメリカ合衆国、ワシントン、シアトル、エヌイー、トゥエンティフォース アヴェニュー 6 5
2 2 ビー

(72)発明者 オジャラ、イーサン ダブリュ、

アメリカ合衆国、ワシントン、スノーホーミシュ、ネヴァーズ ロード 1 4 3 1 0

(72)発明者 ファン、ペイ

アメリカ合衆国、ワシントン、ボテル、エスダブリュ、トゥーハンドレッドアンドフォーティサー
ド ストリート 1 9 0 5

(72)発明者 スミス、ジェフリー ティー、エル、

アメリカ合衆国、ワシントン、ベルビュー、エヌイー トウェルفس ストリート 1 0 2 7 0、
アパートメント エフ 3 0 7

(72)発明者 マクニール、パトリシア ダイアン

アメリカ合衆国、ワシントン、フェデラル ウェイ、サウス トゥーハンドレッドアンドナインテ
ィース プレイス 1 3 3 3

(72)発明者 ビルグレン、イェンス

アメリカ合衆国、ワシントン、シアトル、サンド ポイント ウェイ 7 3 0 9、エヌイー ナン
バー ビー 9 4 8

- (72)発明者 スチュワート、エリカ エイ.
アメリカ合衆国、ワシントン、ショアライン、エヌイー ワンハンドレッドアンドフォーティセブ
ンス ストリート 103
- (72)発明者 アカツカ、コリンヌ シー.
アメリカ合衆国、ハワイ、ヒロ、ノエラニ ループ 203
- (72)発明者 チャン、ベティー ユー - チン
アメリカ合衆国、カリフォルニア、キューパーティノ、リンゼイ アヴェニュー 10375
- (72)発明者 レイサム、ジョン エイ.
アメリカ合衆国、ワシントン、シアトル、エヌダブリュ、テンス アヴェニュー 2409
- (72)発明者 ガルシア - マルティネス、レオン エフ.
アメリカ合衆国、ワシントン、ウッドインヴィル、エスイー、トゥーハンドレッドアンドフォーテ
ィーンズ ストリート 4926

審査官 大久保 智之

- (56)参考文献 特開2007-320967 (JP, A)
特表2012-525838 (JP, A)
特表2006-504744 (JP, A)
特表2010-535509 (JP, A)
特表2007-537703 (JP, A)
米国特許出願公開第2010/0034818 (US, A1)
特表2008-500970 (JP, A)
特表2008-527989 (JP, A)
特表2008-542439 (JP, A)
Research in Immunology, 1994年, 145, 33-36
analytical chemistry, 2010年 2月, 82, 3, 1027-1038
Cancer Res, 2005年, 65, 20, 9426-9435
HYBRIDOMA, 2000年, 19, 3, 215-227

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

C12N 15/00
C12N 1/00
C12N 5/00
C07K 16/00
C12P 21/00
CAplus/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS/WPIDS
(STN)
JSTplus/JMEDplus/JST7580 (JDreamIII)
UniProt/GeneSeq
Scopus