(19)日本国特許庁(JP)　(12)公表特許公報(A)　(11)公表番号
特表2025-518061
(P2025-518061A)
(43)公表日　令和7年6月12日(2025.6.12)

(51)国際特許分類			FI			テーマコード（参考）
C07K	*16/28*	*(2006.01)*	C07K	16/28	ZNA	4B063
C12N	*15/12*	*(2006.01)*	C12N	15/12		4B064
C12N	*15/62*	*(2006.01)*	C12N	15/62	Z	4B065
C12N	*15/63*	*(2006.01)*	C12N	15/63	Z	4C076
C12N	*1/15*	*(2006.01)*	C12N	1/15		4C085

審査請求　未請求　予備審査請求　未請求　（全90頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2024-569560(P2024-569560)
(86)(22)出願日　令和5年5月24日(2023.5.24)
(85)翻訳文提出日　令和7年1月16日(2025.1.16)
(86)国際出願番号　PCT/CN2023/096076
(87)国際公開番号　WO2023/227033
(87)国際公開日　令和5年11月30日(2023.11.30)
(31)優先権主張番号　202210599888.X
(32)優先日　令和4年5月25日(2022.5.25)
(33)優先権主張国・地域又は機関
中国(CN)
(31)優先権主張番号　202211318610.7
(32)優先日　令和4年10月26日(2022.10.26)
(33)優先権主張国・地域又は機関
中国(CN)
(81)指定国・地域　AP(BW,CV,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ
最終頁に続く

(71)出願人　524431755
デュアリティー バイオロジクス（スージョウ）カンパニー，リミテッド
中華人民共和国 ２１５０００ ジャンスー，スージョウ，スージョウ インダストリアル パーク，ジングー ロード，ナンバー ９９，バイオメディカル インダストリアル パーク フェーズ ３，ゾーン ビー，ビルディング ３，ユニット ３０１
(74)代理人　110002572
弁理士法人平木国際特許事務所
(72)発明者　リー，シー
中華人民共和国 ２０１２０４ シャンハイ，プドン ニュー エリア，インファ ロード ８６８，ユニット １１０６
最終頁に続く

(54)【発明の名称】　抗ＢＤＣＡ２抗体およびその使用

(57)【要約】
本発明は、ＢＤＣＡ２と特異的に結合する抗体またはそれらの抗原結合フラグメント、ならびにそれらを含む組成物を提供する。また、本発明の抗体または抗原結合フラグメントをコードする核酸分子、本発明の抗体または抗原結合フラグメントを発現するためのベクターおよび宿主細胞、治療および診断方法ならびに本発明の抗体または抗原結合フラグメントの使用も提供される。
【選択図】なし

【特許請求の範囲】
【請求項１】
抗ＢＤＣＡ２抗体またはその抗原結合フラグメントであって、前記抗ＢＤＣＡ２抗体またはその抗原結合フラグメントは、重鎖可変領域および／または軽鎖可変領域を含み、
前記重鎖可変領域は、
（Ｉ）それぞれ配列番号１１、配列番号１２、および配列番号１３に示されるアミノ酸配列を有するＨＣＤＲ１、ＨＣＤＲ２、およびＨＣＤＲ３；またはそれぞれ配列番号１１、配列番号１２および配列番号１３に示されるアミノ酸配列とは異なる１、２もしくは３個のアミノ酸配列を有するＨＣＤＲ１、ＨＣＤＲ２およびＨＣＤＲ３；あるいは
（ＩＩ）それぞれ配列番号１９、配列番号２０および配列番号２１に示されるアミノ酸配列を有するＨＣＤＲ１、ＨＣＤＲ２およびＨＣＤＲ３；またはそれぞれ配列番号１９、配列番号２０および配列番号２１に示されるアミノ酸配列とは異なる１、２もしくは３個のアミノ酸配列を有するＨＣＤＲ１、ＨＣＤＲ２およびＨＣＤＲ３；あるいは
（ＩＩＩ）それぞれ配列番号２５、配列番号２６および配列番号２７に示されるアミノ酸配列を有するＨＣＤＲ１、ＨＣＤＲ２およびＨＣＤＲ３；またはそれぞれ配列番号２５、配列番号２６、および配列番号２７に示されるアミノ酸配列とは異なる１、２、もしくは３個のアミノ酸を有するＨＣＤＲ１、ＨＣＤＲ２、およびＨＣＤＲ３；あるいは
（ＩＶ）それぞれ配列番号３１、配列番号３２および配列番号３３に示されるアミノ酸配列を有するＨＣＤＲ１、ＨＣＤＲ２およびＨＣＤＲ３；またはそれぞれ配列番号３１、配列番号３２、および配列番号３３に示されるアミノ酸配列とは異なる１、２、もしくは３個のアミノ酸を有するＨＣＤＲ１、ＨＣＤＲ２、およびＨＣＤＲ３；あるいは
（Ｖ）それぞれ配列番号３８、配列番号３９および配列番号４０に示されるアミノ酸配列を有するＨＣＤＲ１、ＨＣＤＲ２およびＨＣＤＲ３；またはそれぞれ配列番号３８、配列番号３９、および配列番号４０に示されるアミノ酸配列とは異なる１、２、もしくは３個のアミノ酸を有するＨＣＤＲ１、ＨＣＤＲ２、およびＨＣＤＲ３；あるいは
（ＶＩ）それぞれ配列番号３１、配列番号４６および配列番号４７に示されるアミノ酸配列を有するＨＣＤＲ１、ＨＣＤＲ２およびＨＣＤＲ３；またはそれぞれ配列番号３１、配列番号４６、および配列番号４７に示されるアミノ酸配列とは異なる１、２、もしくは３個のアミノ酸を有するＨＣＤＲ１、ＨＣＤＲ２、およびＨＣＤＲ３；あるいは
（ＶＩＩ）それぞれ配列番号３１、配列番号５０および配列番号４７に示されるアミノ酸配列を有するＨＣＤＲ１、ＨＣＤＲ２およびＨＣＤＲ３；またはそれぞれ配列番号３１、配列番号５０、および配列番号４７に示されるアミノ酸配列とは異なる１、２、もしくは３個のアミノ酸を有するＨＣＤＲ１、ＨＣＤＲ２、およびＨＣＤＲ３；あるいは
（ＶＩＩＩ）それぞれ配列番号５２、配列番号３９および配列番号５３に示されるアミノ酸配列を有するＨＣＤＲ１、ＨＣＤＲ２およびＨＣＤＲ３；またはそれぞれ配列番号５２、配列番号３９、および配列番号５３に示されるアミノ酸配列とは異なる１、２、もしくは３個のアミノ酸ＨＣＤＲ１、ＨＣＤＲ２、およびＨＣＤＲ３；あるいは
（ＩＸ）それぞれ配列番号２５、配列番号２６および配列番号３７に示されるアミノ酸配列を有するＨＣＤＲ１、ＨＣＤＲ２およびＨＣＤＲ３；またはそれぞれ配列番号２５、配列番号２６、および配列番号３７に示されるアミノ酸配列とは異なる１、２、もしくは３個のアミノ酸ＨＣＤＲ１、ＨＣＤＲ２、およびＨＣＤＲ３
を含み：ならびに／あるいは
前記軽鎖可変領域は、
（Ｉ）それぞれ配列番号１４、配列番号１５、および配列番号１６に示されるアミノ酸配列を有するＬＣＤＲ１、ＬＣＤＲ２、およびＬＣＤＲ３；またはそれぞれ配列番号１４、配列番号１５および配列番号１６に示されるアミノ酸配列とは異なる１、２もしくは３個のアミノ酸配列を有するＬＣＤＲ１、ＬＣＤＲ２およびＬＣＤＲ３；あるいは
（ＩＩ）それぞれ配列番号２２、配列番号２３、および配列番号２４に示されるアミノ酸配列を有するＬＣＤＲ１、ＬＣＤＲ２、およびＬＣＤＲ３；またはそれぞれ配列番号２２、配列番号２３および配列番号２４に示されるアミノ酸配列とは異なる１、２もしくは

３個のアミノ酸配列を有するＬＣＤＲ１、ＬＣＤＲ２およびＬＣＤＲ３；あるいは
（ＩＩＩ）それぞれ配列番号２８、配列番号２９、および配列番号３０に示されるアミノ酸配列を有するＬＣＤＲ１、ＬＣＤＲ２、およびＬＣＤＲ３；またはそれぞれ配列番号２８、配列番号２９および配列番号３０に示されるアミノ酸配列とは異なる１、２もしくは３個のアミノ酸配列を有するＬＣＤＲ１、ＬＣＤＲ２およびＬＣＤＲ３；あるいは
（ＩＶ）それぞれ配列番号３４、配列番号３５、および配列番号３６に示されるアミノ酸配列を有するＬＣＤＲ１、ＬＣＤＲ２、およびＬＣＤＲ３；またはそれぞれ配列番号３４、配列番号３５および配列番号３６に示されるアミノ酸配列とは異なる１、２もしくは３個のアミノ酸配列を有するＬＣＤＲ１、ＬＣＤＲ２およびＬＣＤＲ３；あるいは
（Ｖ）それぞれ配列番号４１、配列番号１５、および配列番号４２に示されるアミノ酸配列を有するＬＣＤＲ１、ＬＣＤＲ２、およびＬＣＤＲ３；またはそれぞれ配列番号４１、配列番号１５および配列番号４２に示されるアミノ酸配列とは異なる１、２もしくは３個のアミノ酸配列を有するＬＣＤＲ１、ＬＣＤＲ２およびＬＣＤＲ３；あるいは
（ＶＩ）それぞれ配列番号３４、配列番号４８、および配列番号４９に示されるアミノ酸配列を有するＬＣＤＲ１、ＬＣＤＲ２、およびＬＣＤＲ３；またはそれぞれ配列番号３４、配列番号４８および配列番号４９に示されるアミノ酸配列とは異なる１、２もしくは３個のアミノ酸配列を有するＬＣＤＲ１、ＬＣＤＲ２およびＬＣＤＲ３；あるいは
（ＶＩＩ）それぞれ配列番号３４、配列番号５１、および配列番号４９に示されるアミノ酸配列を有するＬＣＤＲ１、ＬＣＤＲ２、およびＬＣＤＲ３；またはそれぞれ配列番号３４、配列番号５１および配列番号４９に示されるアミノ酸配列とは異なる１、２もしくは３個のアミノ酸配列を有するＬＣＤＲ１、ＬＣＤＲ２およびＬＣＤＲ３；あるいは
（ＶＩＩＩ）それぞれ配列番号５４、配列番号５５、および配列番号４２に示されるアミノ酸配列を有するＬＣＤＲ１、ＬＣＤＲ２、およびＬＣＤＲ３；またはそれぞれ配列番号５４、配列番号５５および配列番号４２に示されるアミノ酸配列とは異なる１、２もしくは３個のアミノ酸配列を有するＬＣＤＲ１、ＬＣＤＲ２およびＬＣＤＲ３；あるいは
（ＩＸ）それぞれ配列番号８６、配列番号１５、および配列番号１６に示されるアミノ酸配列を有するＬＣＤＲ１、ＬＣＤＲ２、およびＬＣＤＲ３；またはそれぞれ配列番号８６、配列番号１５および配列番号１６に示されるアミノ酸配列とは異なる１、２もしくは３個のアミノ酸配列を有する、ＬＣＤＲ１、ＬＣＤＲ２およびＬＣＤＲ３
を含む、抗ＢＤＣＡ２抗体またはその抗原結合フラグメント。
【請求項２】
（Ｉ）それぞれ配列番号５２、配列番号３９、および配列番号５３に示されるアミノ酸配列を有するＨＣＤＲ１、ＨＣＤＲ２、およびＨＣＤＲ３を含む重鎖可変領域；ならびにそれぞれ配列番号５４、配列番号５５、および配列番号４２に示されるアミノ酸配列を有するＬＣＤＲ１、ＬＣＤＲ２、およびＬＣＤＲ３を含む軽鎖可変領域；または
（ＩＩ）それぞれ配列番号１９、配列番号２０、および配列番号２１に示されるアミノ酸配列を有する、ＨＣＤＲ１、ＨＣＤＲ２、およびＨＣＤＲ３を含む重鎖可変領域；ならびにそれぞれ配列番号２２、配列番号２３、および配列番号２４に示されるアミノ酸配列を有するＬＣＤＲ１、ＬＣＤＲ２、およびＬＣＤＲ３を含む軽鎖可変領域；または
（ＩＩＩ）それぞれ配列番号２５、配列番号２６に示されるアミノ酸配列を有するＨＣＤＲ１およびＨＣＤＲ２、およびそれぞれ配列番号２７または配列番号３７に示されるＨＣＤＲ３を含む重鎖可変領域；ならびにそれぞれ配列番号２８、配列番号２９、および配列番号３０に示されるアミノ酸配列を有するＬＣＤＲ１、ＬＣＤＲ２、およびＬＣＤＲ３を含む軽鎖可変領域；または
（ＩＶ）それぞれ配列番号３１、配列番号３２、および配列番号３３に示されるアミノ酸配列を有するＨＣＤＲ１、ＨＣＤＲ２、およびＨＣＤＲ３を含む重鎖可変領域；ならびにそれぞれ配列番号３４、配列番号３５、および配列番号３６に示されるアミノ酸配列を有するＬＣＤＲ１、ＬＣＤＲ２、およびＬＣＤＲ３を含む軽鎖可変領域；または
（Ｖ）それぞれ配列番号３８、配列番号３９、および配列番号４０に示されるアミノ酸配列を有するＨＣＤＲ１、ＨＣＤＲ２、およびＨＣＤＲ３を含む重鎖可変領域；ならびに

それぞれ配列番号４１、配列番号１５、および配列番号４２に示されるアミノ酸配列を有するＬＣＤＲ１、ＬＣＤＲ２、およびＬＣＤＲ３を含む軽鎖可変領域；または
（ＶＩ）それぞれ配列番号３１に示されるアミノ酸配列を有するＨＣＤＲ１、配列番号４６もしくは配列番号５０に示されるＨＣＤＲ２、および配列番号４７に示されるＨＣＤＲ３を含む重鎖可変領域；ならびにそれぞれ配列番号３４に示されるアミノ酸配列を有するＬＣＤＲ１、配列番号４８もしくは配列番号５１に示されるＬＣＤＲ２、および配列番号４９に示されるＬＣＤＲ３を含む軽鎖可変領域；または
（ＶＩＩ）それぞれ配列番号１１、配列番号１２、および配列番号１３に示されるアミノ酸配列を有するＨＣＤＲ１、ＨＣＤＲ２、およびＨＣＤＲ３を含む重鎖可変領域；ならびにそれぞれ配列番号１４もしくは配列番号８６に示されるアミノ酸配列を有するＬＣＤＲ１、配列番号１５に示されるＬＣＤＲ２、および配列番号１６に示されるＬＣＤＲ３を含む軽鎖可変領域
を含む、請求項１に記載の抗体またはその抗原結合フラグメント。
【請求項３】
重鎖可変領域および軽鎖可変領域を含み、
（Ｉ）前記重鎖可変領域が配列番号６１に示されるアミノ酸配列を含むか、または配列番号６１に示されるアミノ酸配列と少なくとも９５％、９６％、９７％、９８％、もしくは９９％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含み；前記軽鎖可変領域が配列番号６２に示されるアミノ酸配列を含むか、または配列番号６２に示されるアミノ酸配列と少なくとも９５％、９６％、９７％、９８％、もしくは９９％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む；あるいは
（ＩＩ）前記重鎖可変領域が配列番号６５に示されるアミノ酸配列を含むか、または配列番号６５に示されるアミノ酸配列と少なくとも９５％、９６％、９７％、９８％、もしくは９９％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含み；前記軽鎖可変領域が配列番号６６に示されるアミノ酸配列を含むか、または配列番号６６に示されるアミノ酸配列と少なくとも９５％、９６％、９７％、９８％、もしくは９９％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む；あるいは
（ＩＩＩ）前記重鎖可変領域が配列番号６７に示されるアミノ酸配列を含むか、または配列番号６７に示されるアミノ酸配列と少なくとも９５％、９６％、９７％、９８％、もしくは９９％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含み；前記軽鎖可変領域が配列番号６８に示されるアミノ酸配列を含むか、または配列番号６８に示されるアミノ酸配列と少なくとも９５％、９６％、９７％、９８％、もしくは９９％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む；あるいは
（ＩＶ）前記重鎖可変領域が配列番号６９に示されるアミノ酸配列を含むか、または配列番号６９に示されるアミノ酸配列と少なくとも９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含み；前記軽鎖可変領域が配列番号７０に示されるアミノ酸配列を含むか、または配列番号７０に示されるアミノ酸配列と少なくとも９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む；あるいは
（Ｖ）前記重鎖可変領域が配列番号７１に示されるアミノ酸配列を含むか、または配列番号７１に示されるアミノ酸配列と少なくとも９５％、９６％、９７％、９８％、もしくは９９％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含み；前記軽鎖可変領域が配列番号６８に示されるアミノ酸配列を含むか、または配列番号６８に示されるアミノ酸配列と少なくとも９５％、９６％、９７％、９８％、もしくは９９％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む；あるいは
（ＶＩ）前記重鎖可変領域が配列番号７２に示されるアミノ酸配列を含むか、または配列番号７２に示されるアミノ酸配列と少なくとも９５％、９６％、９７％、９８％、もしくは９９％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含み；前記軽鎖可変領域が配列番号７３に示されるアミノ酸配列を含むか、または配列番号７３に示されるアミノ酸配列と少なくとも９５％、９６％、９７％、９８％、もしくは９９％の配列同一性を有するアミノ酸配

列を含む；あるいは
（ＶＩＩ）前記重鎖可変領域が配列番号７６に示されるアミノ酸配列を含むか、または配列番号７６に示されるアミノ酸配列と少なくとも９５％、９６％、９７％、９８％、もしくは９９％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含み；前記軽鎖可変領域が配列番号７７に示されるアミノ酸配列を含むか、または配列番号７７に示されるアミノ酸配列と少なくとも９５％、９６％、９７％、９８％、もしくは９９％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む；あるいは
（ＶＩＩＩ）前記重鎖可変領域が配列番号８０に示されるアミノ酸配列を含むか、または配列番号８０に示されるアミノ酸配列と少なくとも９５％、９６％、９７％、９８％、もしくは９９％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含み；前記軽鎖可変領域が配列番号７９に示されるアミノ酸配列を含むか、または配列番号７９に示されるアミノ酸配列と少なくとも９５％、９６％、９７％、９８％、もしくは９９％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む；あるいは
（ＩＸ）前記重鎖可変領域が配列番号８２に示されるアミノ酸配列を含むか、または配列番号８２に示されるアミノ酸配列と少なくとも９５％、９６％、９７％、９８％、もしくは９９％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含み；前記軽鎖可変領域が配列番号８３に示されるアミノ酸配列を含むか、または配列番号８３に示されるアミノ酸配列と少なくとも９５％、９６％、９７％、９８％、もしくは９９％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、
請求項１または２に記載の抗体またはその抗原結合フラグメント。
【請求項４】
（Ｉ）配列番号８７～１１０のいずれか１つに示されるアミノ酸配列を含むか、または配列番号８７～１１０のいずれか１つに示されるアミノ酸配列と少なくとも９５％、９６％、９７％、９８％、もしくは９９％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む重鎖可変領域；および配列番号１３５～１５８のいずれか１つに示されるアミノ酸配列を含むか、または配列番号１３５～１５８のいずれか１つに示されるアミノ酸配列と少なくとも９５％、９６％、９７％、９８％、もしくは９９％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域；あるいは
（ＩＩ）配列番号１１１～１３４のいずれか１つに示されるアミノ酸配列を含むか、または配列番号１１１～１３４のいずれか１つに示されるアミノ酸配列と少なくとも９５％、９６％、９７％、９８％、もしくは９９％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む重鎖可変領域；および配列番号１５９～１８２のいずれか１つに示されるアミノ酸配列を含むか、または配列番号１５９～１８２のいずれか１つに示されるアミノ酸配列と少なくとも９５％、９６％、９７％、９８％、もしくは９９％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域；あるいは
（ＩＩＩ）配列番号８９に示されるアミノ酸配列を含むか、または配列番号８９に示されるアミノ酸配列と少なくとも９５％、９６％、９７％、９８％、もしくは９９％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む重鎖可変領域；配列番号１３７に示されるアミノ酸配列を含むか、または配列番号１３７に示されるアミノ酸配列と少なくとも９５％、９６％、９７％、９８％、もしくは９９％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域；
（ＩＶ）配列番号１０６に示されるアミノ酸配列を含むか、または配列番号１０６に示されるアミノ酸配列と少なくとも９５％、９６％、９７％、９８％、もしくは９９％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む重鎖可変領域；配列番号１５４に示されるアミノ酸配列を含むか、または配列番号１５４に示されるアミノ酸配列と少なくとも９５％、９６％、９７％、９８％、もしくは９９％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域；
（Ｖ）配列番号１１４に示されるアミノ酸配列を含むか、または配列番号１１４に示されるアミノ酸配列と少なくとも９５％、９６％、９７％、９８％、もしくは９９％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む重鎖可変領域；および配列番号１６２に示されるアミ

ノ酸配列を含むか、または配列番号１６２に示されるアミノ酸配列と少なくとも９５％、９６％、９７％、９８％、もしくは９９％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域；あるいは
（ＶＩ）表Ｃに示されるようなアミノ酸配列の任意の組合せを含む重鎖可変領域および軽鎖可変領域
を含む、請求項１または２に記載の抗体またはその抗原結合フラグメント。
【請求項５】
抗体がマウス由来抗体、キメラ抗体、ヒト化抗体、および完全ヒト抗体からなる群から選択される、請求項１～４のいずれか一項に記載の抗体またはその抗原結合フラグメント。
【請求項６】
抗原結合フラグメントがＦａｂ、Ｆａｂ’、Ｆ（ａｂ’）２、Ｆｖ、ｓｃＦｖ、およびｓｄＡｂからなる群から選択される、請求項１～４のいずれか一項に記載の抗体またはその抗原結合フラグメント。
【請求項７】
ＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３、またはＩｇＧ４などの任意のＩｇＧサブタイプ、好ましくは、ＩｇＧ１サブタイプのものである、請求項１～４のいずれか一項に記載の抗体またはその抗原結合フラグメント。
【請求項８】
抗体が以下の配列：
（Ｉ）配列番号１８３に示されるか、またはそれと少なくとも９５％、９６％、９７％、９８％もしくは９９％の配列同一性を有するアミノ酸配列を有する重鎖、および配列番号１８６に示されるか、またはそれと少なくとも９５％、９６％、９７％、９８％もしくは９９％の配列同一性を有するアミノ酸配列を有する軽鎖；あるいは
（ＩＩ）配列番号１８４に示されるか、またはそれと少なくとも９５％、９６％、９７％、９８％もしくは９９％の配列同一性を有するアミノ酸配列を有する重鎖、および配列番号１８７に示されるか、またはそれと少なくとも９５％、９６％、９７％、９８％もしくは９９％の配列同一性を有するアミノ酸配列を有する軽鎖；あるいは
（ＩＩＩ）配列番号１８５に示されるか、またはそれと少なくとも９５％、９６％、９７％、９８％もしくは９９％の配列同一性を有するアミノ酸配列を有する重鎖、および配列番号１８８に示されるか、またはそれと少なくとも９５％、９６％、９７％、９８％もしくは９９％の配列同一性を有するアミノ酸配列を有する軽鎖
を含むまたはからなる、請求項４に記載の抗体またはその抗原結合フラグメント。
【請求項９】
以下の配列：
（Ｉ）配列番号１８３に示されるアミノ酸配列とは異なる１、２、もしくは３個のアミノ酸を有する重鎖、および配列番号１８６に示されるアミノ酸配列を有する軽鎖；または
（ＩＩ）配列番号１８４に示されるアミノ酸配とは異なる１、２、もしくは３個のアミノ酸列を有する重鎖、および配列番号１８７に示されるアミノ酸配列を有する軽鎖；または
（ＩＩＩ）配列番号１８５に示されるアミノ酸配列とは異なる１、２、もしくは３個のアミノ酸を有する重鎖、および配列番号１８８に示されるアミノ酸配列を有する軽鎖
を含むまたはからなる、請求項８に記載の抗体またはその抗原結合フラグメント。
【請求項１０】
抗体が以下の配列：
（Ｉ）配列番号１９１、配列番号１９２もしくは配列番号１９３に示されるアミノ酸配列を有する重鎖、ならびに配列番号１８６に示されるアミノ酸配列を有する軽鎖；または
（ＩＩ）配列番号１９４、配列番号１９５または配列番号１９６に示されるアミノ酸配列を有する重鎖、ならびに列番号１８７に示されるアミノ酸配列を有する軽鎖
を含むまたはからなる、請求項８に記載の抗体またはその抗原結合フラグメント。

【請求項１１】
請求項１～１０のいずれか一項に記載の抗ＢＤＣＡ２抗体またはその抗原結合フラグメントをコードするポリヌクレオチド分子。
【請求項１２】
好ましくは真核生物発現ベクターである、請求項１１に記載のポリヌクレオチド分子を含む発現ベクター。
【請求項１３】
好ましくは真核細胞、より好ましくは哺乳動物細胞である、請求項１１に記載のポリヌクレオチド分子または請求項１２に記載の発現ベクターを含む宿主細胞。
【請求項１４】
請求項１～１０のいずれか一項に記載の抗ＢＤＣＡ２抗体またはその抗原結合フラグメントを作製するための方法であって、請求項１３に記載の宿主細胞において、前記抗体またはその抗原結合フラグメントの発現に好適な条件下で前記抗体またはその抗原結合フラグメントを発現させること、および発現した抗体またはその抗原結合フラグメントを前記宿主細胞から回収することを含む、方法。
【請求項１５】
抗体またはその抗原結合フラグメントが少なくとも１つの治療薬または診断薬、好ましくは、抗炎症薬または免疫抑制薬を結合されている、請求項１～１０のいずれか一項に記載の抗ＢＤＣＡ２抗体またはその抗原結合フラグメントを含む免疫複合体。
【請求項１６】
請求項１～１０のいずれか一項に記載の抗ＢＤＣＡ２抗体またはその抗原結合フラグメント、請求項１１に記載のポリヌクレオチド分子、請求項１３に記載の発現ベクター、請求項１１に記載の宿主細胞、請求項１３に記載の免疫複合体、および薬学上許容される担体または賦形剤を含む医薬組成物。
【請求項１７】
対象の免疫細胞からのサイトカインの過剰放出を阻害するための方法であって、前記対象の免疫細胞を請求項１～１０のいずれか一項に記載の抗ＢＤＣＡ２抗体もしくはその抗原結合フラグメント、請求項１５に記載の免疫複合体、または請求項１６に記載の医薬組成物と接触させることを含み、好ましくは、前記免疫細胞はＣｐＧ－Ａにより刺激されたＰＢＭＣ細胞である、方法。
【請求項１８】
ＢＤＣＡ２介在疾患、好ましくは、炎症性疾患；より好ましくは、全身性エリテマトーデス、円板状ループス、ループス腎炎、皮膚エリテマトーデス、関節リウマチ、炎症性腸疾患、全身性強皮症（強皮症）、乾癬、Ｉ型糖尿病、皮膚筋炎、および多発性筋炎から選択される炎症性疾患の治療および／または予防のための薬剤の調製における、請求項１～１０のいずれか一項に記載の抗体またはその抗原結合フラグメント、請求項１５に記載の免疫複合体、または請求項１６に記載の医薬組成物の使用。
【請求項１９】
請求項１～１０のいずれか一項に記載の抗体もしくはその抗原結合フラグメント、請求項１５に記載の免疫複合体、または請求項１６に記載の医薬組成物を含むキット。
【請求項２０】
請求項１～１０のいずれか一項に記載の抗体またはその抗原結合フラグメント、または前記抗体もしくはその抗原結合フラグメントを含有する検出組成物を用いて、サンプル中のＢＤＣＡ２の存在を検出するための方法であって、前記抗体もしくはその抗原結合フラグメントまたは前記抗体もしくはその抗原結合フラグメントを含有する検出組成物を前記サンプルと接触させる工程を含む、方法。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
発明の分野

本発明は、モノクローナル抗体および／または操作抗体の分野に関する。具体的には、本発明は、ＢＤＣＡ２と特異的に結合する抗体またはその抗原結合フラグメントおよび抗体またはその抗原結合フラグメントを含む組成物を提供する。本発明はさらに、本発明の抗体またはその抗原結合フラグメントをコードする核酸分子、本発明の抗体またはその抗原結合フラグメントを発現するためのベクターおよび宿主細胞、治療および診断／検出方法、ならびに本発明の抗体またはその抗原結合フラグメントに使用を提供する。

【背景技術】

【０００２】

発明の背景

医学研究の進歩に伴い、様々な疾患が免疫系の機能障害と関連していることが分かってきており、免疫系の研究は、病因の理解をさらに理解し、より最適な治療選択肢を模索するのに役立っている。

【０００３】

免疫系は、限定されるものではないが、Ｔ細胞、Ｂ細胞、ナチュラルキラー細胞、抗原提示細胞、樹状細胞、単球およびマクロファージを含む多くの細胞種から構成される非常に複雑なシステムである。これらの細胞の相互作用および応答は、複雑で微妙なシステムの制御下にある。細胞は、反応の制御を維持し、制御不能な免疫反応（例えば、自己免疫疾患）によって引き起こされる負の結果をできる限り防ぐために、活性化と抑制のメカニズムならびにフィードバックループを利用している。免疫に関連する複数のシグナル伝達経路には、多数のシグナル伝達分子とそれらの相互作用が関与している。

【０００４】

血液樹状細胞抗原２(Blood dendritic cell antigen 2)（ＢＤＣＡ２）は、ヒト形質細胞様樹状細胞（ｐｌｃ．）上に発現するＣ型レクチンである(Dzionek et al., J. Immunol.,165:6037-6046(2000))。ＢＤＣＡ２は、Ｃ末端の単一の細胞外糖鎖認識ドメイン（ＣＲＤ）（ＩＩ型Ｃ型レクチン群に属する）、４５位のアスパラギン残基から２１３位のイソロイシン残基までの膜貫通領域、およびＮ末端の短い細胞質テール（シグナル伝達モチーフを持たない）からなる。ＢＤＣＡ２は、関連する膜貫通アダプターであるＦｃεＲＩγを介して細胞内シグナルを伝達し、Ｂ細胞受容体（ＢＣＲ）様シグナル伝達カスケードを誘導する。

【発明の概要】

【０００５】

発明の概要

本発明は、ＢＤＣＡ２と特異的に結合し、ヒトおよびカニクイザルＢＤＣＡ２に対する高い親和性および高い特異性などの利点を有する抗体またはその抗原結合フラグメントを提供する。本発明により提供される抗ＢＤＣＡ２抗体またはその抗原結合フラグメントは、例えば、炎症性病態／疾患の治療に、独立した単剤療法または他の療法および／もしくは他の薬剤との併用療法として使用することができる。

【０００６】

本明細書に記載される抗ＢＤＣＡ２抗体は、ヒト形質細胞様樹状細胞（ｐＤＣ）による炎症性サイトカインおよびケモカインの産生および／または分泌を阻害する。さらに、本明細書に記載される抗ＢＤＣＡ２抗体は、ｐＤＣの表面のＣＤ３２ａおよび／またはＣＤ６２Ｌのレベルを下方調節し得る。さらに、本開示の抗ＢＤＣＡ２抗体は、ｐＤＣの表面からのＢＤＣＡ２の細胞内移行に介在し得る。さらに、本明細書に記載される抗ＢＤＣＡ２抗体は、ＡＤＣＣまたはＣＤＣによるｐＤＣ枯渇に使用することもできるし、免疫障害、例えば、炎症性障害および自己免疫性障害を治療または予防するためにも使用することができる。

【０００７】

一態様において、本発明は、抗ＢＤＣＡ２抗体またはその抗原結合フラグメントを提供し、前記抗ＢＤＣＡ２抗体またはその抗原結合フラグメントは、重鎖可変領域および／または軽鎖可変領域を含み、

前記重鎖可変領域は、
（Ｉ）それぞれ配列番号１１、配列番号１２、および配列番号１３に示されるアミノ酸配列を有するＨＣＤＲ１、ＨＣＤＲ２、およびＨＣＤＲ３；またはそれぞれ配列番号１１、配列番号１２および配列番号１３に示されるアミノ酸配列とは異なる１、２もしくは３個のアミノ酸配列を有するＨＣＤＲ１、ＨＣＤＲ２およびＨＣＤＲ３；あるいは
（ＩＩ）それぞれ配列番号１９、配列番号２０および配列番号２１に示されるアミノ酸配列を有するＨＣＤＲ１、ＨＣＤＲ２およびＨＣＤＲ３；またはそれぞれ配列番号１９、配列番号２０および配列番号２１に示されるアミノ酸配列とは異なる１、２もしくは３個のアミノ酸配列を有するＨＣＤＲ１、ＨＣＤＲ２およびＨＣＤＲ３；あるいは
（ＩＩＩ）それぞれ配列番号２５、配列番号２６および配列番号２７に示されるアミノ酸配列を有するＨＣＤＲ１、ＨＣＤＲ２およびＨＣＤＲ３；またはそれぞれ配列番号２５、配列番号２６、および配列番号２７に示されるアミノ酸配列とは異なる１、２、もしくは３個のアミノ酸を有するＨＣＤＲ１、ＨＣＤＲ２、およびＨＣＤＲ３；あるいは
（ＩＶ）それぞれ配列番号３１、配列番号３２および配列番号３３に示されるアミノ酸配列を有するＨＣＤＲ１、ＨＣＤＲ２およびＨＣＤＲ３；またはそれぞれ配列番号３１、配列番号３２、および配列番号３３に示されるアミノ酸配列とは異なる１、２、もしくは３個のアミノ酸を有するＨＣＤＲ１、ＨＣＤＲ２、およびＨＣＤＲ３；あるいは
（Ｖ）それぞれ配列番号３８、配列番号３９および配列番号４０に示されるアミノ酸配列を有するＨＣＤＲ１、ＨＣＤＲ２およびＨＣＤＲ３；またはそれぞれ配列番号３８、配列番号３９、および配列番号４０に示されるアミノ酸配列とは異なる１、２、もしくは３個のアミノ酸を有するＨＣＤＲ１、ＨＣＤＲ２、およびＨＣＤＲ３；あるいは
（ＶＩ）それぞれ配列番号３１、配列番号４６および配列番号４７に示されるアミノ酸配列を有するＨＣＤＲ１、ＨＣＤＲ２およびＨＣＤＲ３；またはそれぞれ配列番号３１、配列番号４６、および配列番号４７に示されるアミノ酸配列とは異なる１、２、もしくは３個のアミノ酸を有するＨＣＤＲ１、ＨＣＤＲ２、およびＨＣＤＲ３；あるいは
（ＶＩＩ）それぞれ配列番号３１、配列番号５０および配列番号４７に示されるアミノ酸配列を有するＨＣＤＲ１、ＨＣＤＲ２およびＨＣＤＲ３；またはそれぞれ配列番号３１、配列番号５０、および配列番号４７に示されるアミノ酸配列とは異なる１、２、もしくは３個のアミノ酸を有するＨＣＤＲ１、ＨＣＤＲ２、およびＨＣＤＲ３；あるいは
（ＶＩＩＩ）それぞれ配列番号５２、配列番号３９および配列番号５３に示されるアミノ酸配列を有するＨＣＤＲ１、ＨＣＤＲ２およびＨＣＤＲ３；またはそれぞれ配列番号５２、配列番号３９、および配列番号５３に示されるアミノ酸配列とは異なる１、２、もしくは３個のアミノ酸ＨＣＤＲ１、ＨＣＤＲ２、およびＨＣＤＲ３；あるいは
（ＩＸ）それぞれ配列番号２５、配列番号２６および配列番号３７に示されるアミノ酸配列を有するＨＣＤＲ１、ＨＣＤＲ２およびＨＣＤＲ３；またはそれぞれ配列番号２５、配列番号２６、および配列番号３７に示されるアミノ酸配列とは異なる１、２、もしくは３個のアミノ酸ＨＣＤＲ１、ＨＣＤＲ２、およびＨＣＤＲ３
を含み：ならびに／あるいは
前記軽鎖可変領域は、
（Ｉ）それぞれ配列番号１４、配列番号１５、および配列番号１６に示されるアミノ酸配列を有するＬＣＤＲ１、ＬＣＤＲ２、およびＬＣＤＲ３；またはそれぞれ配列番号１４、配列番号１５および配列番号１６に示されるアミノ酸配列とは異なる１、２もしくは３個のアミノ酸配列を有するＬＣＤＲ１、ＬＣＤＲ２およびＬＣＤＲ３；あるいは
（ＩＩ）それぞれ配列番号２２、配列番号２３、および配列番号２４に示されるアミノ酸配列を有するＬＣＤＲ１、ＬＣＤＲ２、およびＬＣＤＲ３；またはそれぞれ配列番号２２、配列番号２３および配列番号２４に示されるアミノ酸配列とは異なる１、２もしくは３個のアミノ酸配列を有するＬＣＤＲ１、ＬＣＤＲ２およびＬＣＤＲ３；あるいは
（ＩＩＩ）それぞれ配列番号２８、配列番号２９、および配列番号３０に示されるアミノ酸配列を有するＬＣＤＲ１、ＬＣＤＲ２、およびＬＣＤＲ３；またはそれぞれ配列番号２８、配列番号２９および配列番号３０に示されるアミノ酸配列とは異なる１、２もしく

は３個のアミノ酸配列を有するＬＣＤＲ１、ＬＣＤＲ２およびＬＣＤＲ３；あるいは
（ＩＶ）それぞれ配列番号３４、配列番号３５、および配列番号３６に示されるアミノ酸配列を有するＬＣＤＲ１、ＬＣＤＲ２、およびＬＣＤＲ３；またはそれぞれ配列番号３４、配列番号３５および配列番号３６に示されるアミノ酸配列とは異なる１、２もしくは３個のアミノ酸配列を有するＬＣＤＲ１、ＬＣＤＲ２およびＬＣＤＲ３；あるいは
（Ｖ）それぞれ配列番号４１、配列番号１５、および配列番号４２に示されるアミノ酸配列を有するＬＣＤＲ１、ＬＣＤＲ２、およびＬＣＤＲ３；またはそれぞれ配列番号４１、配列番号１５および配列番号４２に示されるアミノ酸配列とは異なる１、２もしくは３個のアミノ酸配列を有するＬＣＤＲ１、ＬＣＤＲ２およびＬＣＤＲ３；あるいは
（ＶＩ）それぞれ配列番号３４、配列番号４８、および配列番号４９に示されるアミノ酸配列を有するＬＣＤＲ１、ＬＣＤＲ２、およびＬＣＤＲ３；またはそれぞれ配列番号３４、配列番号４８および配列番号４９に示されるアミノ酸配列とは異なる１、２もしくは３個のアミノ酸配列を有するＬＣＤＲ１、ＬＣＤＲ２およびＬＣＤＲ３；あるいは
（ＶＩＩ）それぞれ配列番号３４、配列番号５１、および配列番号４９に示されるアミノ酸配列を有するＬＣＤＲ１、ＬＣＤＲ２、およびＬＣＤＲ３；またはそれぞれ配列番号３４、配列番号５１および配列番号４９に示されるアミノ酸配列とは異なる１、２もしくは３個のアミノ酸配列を有するＬＣＤＲ１、ＬＣＤＲ２およびＬＣＤＲ３；あるいは
（ＶＩＩＩ）それぞれ配列番号５４、配列番号５５、および配列番号４２に示されるアミノ酸配列を有するＬＣＤＲ１、ＬＣＤＲ２、およびＬＣＤＲ３；またはそれぞれ配列番号５４、配列番号５５および配列番号４２に示されるアミノ酸配列とは異なる１、２もしくは３個のアミノ酸配列を有するＬＣＤＲ１、ＬＣＤＲ２およびＬＣＤＲ３；あるいは
（ＩＸ）それぞれ配列番号８６、配列番号１５、および配列番号１６に示されるアミノ酸配列を有するＬＣＤＲ１、ＬＣＤＲ２、およびＬＣＤＲ３；またはそれぞれ配列番号８６、配列番号１５および配列番号１６に示されるアミノ酸配列とは異なる１、２もしくは３個のアミノ酸配列を有する、ＬＣＤＲ１、ＬＣＤＲ２およびＬＣＤＲ３
を含む。

【０００８】

いくつかの実施形態では、本発明の抗体またはその抗原結合フラグメントは、
（Ｉ）それぞれ配列番号５２、配列番号３９、および配列番号５３に示されるアミノ酸配列を有するＨＣＤＲ１、ＨＣＤＲ２、およびＨＣＤＲ３を含む重鎖可変領域；ならびにそれぞれ配列番号５４、配列番号５５、および配列番号４２に示されるアミノ酸配列を有するＬＣＤＲ１、ＬＣＤＲ２、およびＬＣＤＲ３を含む軽鎖可変領域；または
（ＩＩ）それぞれ配列番号１９、配列番号２０、および配列番号２１に示されるアミノ酸配列を有する、ＨＣＤＲ１、ＨＣＤＲ２、およびＨＣＤＲ３を含む重鎖可変領域；ならびにそれぞれ配列番号２２、配列番号２３、および配列番号２４に示されるアミノ酸配列を有するＬＣＤＲ１、ＬＣＤＲ２、およびＬＣＤＲ３を含む軽鎖可変領域；または
（ＩＩＩ）それぞれ配列番号２５、配列番号２６に示されるアミノ酸配列を有するＨＣＤＲ１およびＨＣＤＲ２、およびそれぞれ配列番号２７または配列番号３７に示されるＨＣＤＲ３を含む重鎖可変領域；ならびにそれぞれ配列番号２８、配列番号２９、および配列番号３０に示されるアミノ酸配列を有するＬＣＤＲ１、ＬＣＤＲ２、およびＬＣＤＲ３を含む軽鎖可変領域；または
（ＩＶ）それぞれ配列番号３１、配列番号３２、および配列番号３３に示されるアミノ酸配列を有するＨＣＤＲ１、ＨＣＤＲ２、およびＨＣＤＲ３を含む重鎖可変領域；ならびにそれぞれ配列番号３４、配列番号３５、および配列番号３６に示されるアミノ酸配列を有するＬＣＤＲ１、ＬＣＤＲ２、およびＬＣＤＲ３を含む軽鎖可変領域；または
（Ｖ）それぞれ配列番号３８、配列番号３９、および配列番号４０に示されるアミノ酸配列を有するＨＣＤＲ１、ＨＣＤＲ２、およびＨＣＤＲ３を含む重鎖可変領域；ならびにそれぞれ配列番号４１、配列番号１５、および配列番号４２に示されるアミノ酸配列を有するＬＣＤＲ１、ＬＣＤＲ２、およびＬＣＤＲ３を含む軽鎖可変領域；または
（ＶＩ）それぞれ配列番号３１に示されるアミノ酸配列を有するＨＣＤＲ１、配列番号

４６もしくは配列番号５０に示されるＨＣＤＲ２、および配列番号４７に示されるＨＣＤＲ３を含む重鎖可変領域；ならびにそれぞれ配列番号３４に示されるアミノ酸配列を有するＬＣＤＲ１、配列番号４８もしくは配列番号５１に示されるＬＣＤＲ２、および配列番号４９に示されるＬＣＤＲ３を含む軽鎖可変領域；または

（ＶＩＩ）それぞれ配列番号１１、配列番号１２、および配列番号１３に示されるアミノ酸配列を有するＨＣＤＲ１、ＨＣＤＲ２、およびＨＣＤＲ３を含む重鎖可変領域；ならびにそれぞれ配列番号１４もしくは配列番号８６に示されるアミノ酸配列を有するＬＣＤＲ１、配列番号１５に示されるＬＣＤＲ２、および配列番号１６に示されるＬＣＤＲ３を含む軽鎖可変領域

を含む。

【０００９】

いくつかの実施形態では、本発明の抗体またはその抗原結合フラグメントは、重鎖可変領域および軽鎖可変領域を含み、

（Ｉ）前記重鎖可変領域が配列番号６１に示されるアミノ酸配列を含むか、または配列番号６１に示されるアミノ酸配列と少なくとも９５％、９６％、９７％、９８％、もしくは９９％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含み；前記軽鎖可変領域が配列番号６２に示されるアミノ酸配列を含むか、または配列番号６２に示されるアミノ酸配列と少なくとも９５％、９６％、９７％、９８％、もしくは９９％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む；あるいは

（ＩＩ）前記重鎖可変領域が配列番号６５に示されるアミノ酸配列を含むか、または配列番号６５に示されるアミノ酸配列と少なくとも９５％、９６％、９７％、９８％、もしくは９９％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含み；前記軽鎖可変領域が配列番号６６に示されるアミノ酸配列を含むか、または配列番号６６に示されるアミノ酸配列と少なくとも９５％、９６％、９７％、９８％、もしくは９９％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む；あるいは

（ＩＩＩ）前記重鎖可変領域が配列番号６７に示されるアミノ酸配列を含むか、または配列番号６７に示されるアミノ酸配列と少なくとも９５％、９６％、９７％、９８％、もしくは９９％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含み；前記軽鎖可変領域が配列番号６８に示されるアミノ酸配列を含むか、または配列番号６８に示されるアミノ酸配列と少なくとも９５％、９６％、９７％、９８％、もしくは９９％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む；あるいは

（ＩＶ）前記重鎖可変領域が配列番号６９に示されるアミノ酸配列を含むか、または配列番号６９に示されるアミノ酸配列と少なくとも９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含み；前記軽鎖可変領域が配列番号７０に示されるアミノ酸配列を含むか、または配列番号７０に示されるアミノ酸配列と少なくとも９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む；あるいは

（Ｖ）前記重鎖可変領域が配列番号７１に示されるアミノ酸配列を含むか、または配列番号７１に示されるアミノ酸配列と少なくとも９５％、９６％、９７％、９８％、もしくは９９％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含み；前記軽鎖可変領域が配列番号６８に示されるアミノ酸配列を含むか、または配列番号６８に示されるアミノ酸配列と少なくとも９５％、９６％、９７％、９８％、もしくは９９％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む；あるいは

（ＶＩ）前記重鎖可変領域が配列番号７２に示されるアミノ酸配列を含むか、または配列番号７２に示されるアミノ酸配列と少なくとも９５％、９６％、９７％、９８％、もしくは９９％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含み；前記軽鎖可変領域が配列番号７３に示されるアミノ酸配列を含むか、または配列番号７３に示されるアミノ酸配列と少なくとも９５％、９６％、９７％、９８％、もしくは９９％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む；あるいは

（ＶＩＩ）前記重鎖可変領域が配列番号７６に示されるアミノ酸配列を含むか、または

配列番号７６に示されるアミノ酸配列と少なくとも９５％、９６％、９７％、９８％、もしくは９９％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含み；前記軽鎖可変領域が配列番号７７に示されるアミノ酸配列を含むか、または配列番号７７に示されるアミノ酸配列と少なくとも９５％、９６％、９７％、９８％、もしくは９９％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む；あるいは

（ＶＩＩＩ）前記重鎖可変領域が配列番号８０に示されるアミノ酸配列を含むか、または配列番号８０に示されるアミノ酸配列と少なくとも９５％、９６％、９７％、９８％、もしくは９９％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含み；前記軽鎖可変領域が配列番号７９に示されるアミノ酸配列を含むか、または配列番号７９に示されるアミノ酸配列と少なくとも９５％、９６％、９７％、９８％、もしくは９９％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む；あるいは

（ＩＸ）前記重鎖可変領域が配列番号８２に示されるアミノ酸配列を含むか、または配列番号８２に示されるアミノ酸配列と少なくとも９５％、９６％、９７％、９８％、もしくは９９％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含み；前記軽鎖可変領域が配列番号８３に示されるアミノ酸配列を含むか、または配列番号８３に示されるアミノ酸配列と少なくとも９５％、９６％、９７％、９８％、もしくは９９％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。

【００１０】

いくつかの実施形態では、本発明の抗体またはその抗原結合フラグメントは、

（Ｉ）配列番号８７～１１０のいずれか１つに示されるアミノ酸配列を含むか、または配列番号８７～１１０のいずれか１つに示されるアミノ酸配列と少なくとも９５％、９６％、９７％、９８％、もしくは９９％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む重鎖可変領域；および配列番号１３５～１５８のいずれか１つに示されるアミノ酸配列を含むか、または配列番号１３５～１５８のいずれか１つに示されるアミノ酸配列と少なくとも９５％、９６％、９７％、９８％、もしくは９９％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域；あるいは

（ＩＩ）配列番号１１１～１３４のいずれか１つに示されるアミノ酸配列を含むか、または配列番号１１１～１３４のいずれか１つに示されるアミノ酸配列と少なくとも９５％、９６％、９７％、９８％、もしくは９９％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む重鎖可変領域；および配列番号１５９～１８２のいずれか１つに示されるアミノ酸配列を含むか、または配列番号１５９～１８２のいずれか１つに示されるアミノ酸配列と少なくとも９５％、９６％、９７％、９８％、もしくは９９％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域；あるいは

（ＩＩＩ）配列番号８９に示されるアミノ酸配列を含むか、または配列番号８９に示されるアミノ酸配列と少なくとも９５％、９６％、９７％、９８％、もしくは９９％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む重鎖可変領域；配列番号１３７に示されるアミノ酸配列を含むか、または配列番号１３７に示されるアミノ酸配列と少なくとも９５％、９６％、９７％、９８％、もしくは９９％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域；あるいは

（ＩＶ）配列番号１０６に示されるアミノ酸配列を含むか、または配列番号１０６に示されるアミノ酸配列と少なくとも９５％、９６％、９７％、９８％、もしくは９９％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む重鎖可変領域；配列番号１５４に示されるアミノ酸配列を含むか、または配列番号１５４に示されるアミノ酸配列と少なくとも９５％、９６％、９７％、９８％、もしくは９９％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域；あるいは

（Ｖ）配列番号１１４に示されるアミノ酸配列を含むか、または配列番号１１４に示されるアミノ酸配列と少なくとも９５％、９６％、９７％、９８％、もしくは９９％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む重鎖可変領域；および配列番号１６２に示されるアミノ酸配列を含むか、または配列番号１６２に示されるアミノ酸配列と少なくとも９５％、９６％、９７％、９８％、もしくは９９％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む軽鎖

可変領域
を含む。
【００１１】
いくつかの実施形態では、本発明の抗体またはその抗原結合フラグメントは、
（Ｉ）配列番号８７～１１０のいずれか１つに示されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域および配列番号１３５～１５８のいずれか１つに示されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域；または
（ＩＩ）配列番号１１１～１３４のいずれか１つに示されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域および配列番号１５９～１８２のいずれか１つに示されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域；または
（ＩＩＩ）配列番号８９に示されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域および配列番号１３７に示されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域；または
（ＩＶ）配列番号１０６に示されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域および配列番号１５４に示されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域；または
（Ｖ）配列番号１１４に示されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域および配列番号１６２に示されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域
を含む。
【００１２】
いくつかの実施形態では、本発明の抗体またはその抗原結合フラグメントでは、抗体は、マウス抗体、キメラ抗体、ヒト化抗体、または完全ヒト抗体からなる群から選択される。いくつかの実施形態では、本発明の抗体またはその抗原結合フラグメントでは、抗体はヒト化抗体である。
【００１３】
いくつかの実施形態では、本発明の抗体またはその抗原結合フラグメントでは、抗原結合フラグメントは、Ｆａｂ、Ｆａｂ’、Ｆ（ａｂ’）２、Ｆｖ、ｓｃＦｖおよびｓｄＡｂからなる群から選択される。
【００１４】
いくつかの実施形態では、本発明の抗体またはその抗原結合フラグメントはＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３またはＩｇＧ４などの任意のＩｇＧサブタイプ、好ましくは、ＩｇＧ１サブタイプのものである。
【００１５】
いくつかの実施形態では、本発明の抗体またはその抗原結合フラグメントでは、抗体は、配列：
（Ｉ）配列番号１８３に示されるか、またはそれと少なくとも９５％、９６％、９７％、９８％もしくは９９％の配列同一性を有するアミノ酸配列を有する重鎖、および配列番号１８６に示されるか、またはそれと少なくとも９５％、９６％、９７％、９８％もしくは９９％の配列同一性を有するアミノ酸配列を有する軽鎖；あるいは
（ＩＩ）配列番号１８４に示されるか、またはそれと少なくとも９５％、９６％、９７％、９８％もしくは９９％の配列同一性を有するアミノ酸配列を有する重鎖、および配列番号１８７に示されるか、またはそれと少なくとも９５％、９６％、９７％、９８％もしくは９９％の配列同一性を有するアミノ酸配列を有する軽鎖；あるいは
（ＩＩＩ）配列番号１８５に示されるか、またはそれと少なくとも９５％、９６％、９７％、９８％もしくは９９％の配列同一性を有するアミノ酸配列を有する重鎖、および配列番号１８８に示されるか、またはそれと少なくとも９５％、９６％、９７％、９８％もしくは９９％の配列同一性を有するアミノ酸配列を有する軽鎖
を含むまたはからなる。
【００１６】
いくつかの実施形態では、本発明の抗体またはその抗原結合フラグメントでは、抗体は、配列：
（Ｉ）配列番号１８３に示されるアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号１８６に示

されるアミノ酸配列を有する軽鎖；または
（ＩＩ）配列番号１８４に示されるアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号１８７に示されるアミノ酸配列を有する軽鎖；または
（ＩＩＩ）配列番号１８５に示されるアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号１８８に示されるアミノ酸配列を有する軽鎖
を含むまたはからなる。
【００１７】
いくつかの実施形態では、本発明の抗体またはその抗原結合フラグメントでは、抗体は、配列：
（Ｉ）配列番号１８３に示されるアミノ酸配列とは異なる１、２、もしくは３個のアミノ酸を有する重鎖、および配列番号１８６に示されるアミノ酸配列を有する軽鎖；または
（ＩＩ）配列番号１８４に示されるアミノ酸配列とは異なる１、２、もしくは３個のアミノ酸を有する重鎖、および配列番号１８７に示されるアミノ酸配列を有する軽鎖；または
（ＩＩＩ）配列番号１８５に示されるアミノ酸配列とは異なる１、２、もしくは３個のアミノ酸を有する重鎖、および配列番号１８８に示されるアミノ酸配列を有する軽鎖
を含むまたはからなる。
【００１８】
いくつかの実施形態では、本発明の抗体またはその抗原結合フラグメントでは、抗体は、配列：
（Ｉ）配列番号１９１、配列番号１９２もしくは配列番号１９３に示されるアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号１８６に示されるアミノ酸配列を有する軽鎖；または
（ＩＩ）配列番号１９４、配列番号１９５または配列番号１９６に示されるアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号１８７に示されるアミノ酸配列を有する軽鎖
を含むまたはからなる。
【００１９】
いくつかの実施形態では、本発明の抗体またはその抗原結合フラグメントは、マウス抗体、キメラ抗体、ヒト化抗体、もしくは完全ヒト抗体、またはその抗原結合フラグメントである。
【００２０】
いくつかの実施形態では、本発明の抗体またはその抗原結合フラグメントでは、抗原結合フラグメントは、Ｆａｂ、Ｆａｂ’、Ｆ（ａｂ’）２、Ｆｖ、ｓｃＦｖおよびｓｄＡｂである。
【００２１】
いくつかの実施形態では、本発明の抗体またはその抗原結合フラグメントは、ＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３またはＩｇＧ４などの任意のＩｇＧサブタイプ、好ましくは、ＩｇＧ１サブタイプのものである。
【００２２】
別の態様において、本発明は、以下の特性：
（１）本発明の抗ＢＤＣＡ２抗体のいずれか１つまたはその抗原結合フラグメントと同じエピトープ、または完全にもしくは部分的にオーバーラップするエピトープに結合すること；
（２）ヒトＢＤＣＡ２タンパク質のエピトープとの結合に関して，本発明の抗ＢＤＣＡ２抗体のいずれか１つまたはその抗原結合フラグメントと競合すること
のうち１以上を有する単離された抗ＢＤＣＡ２抗体またはその抗原結合フラグメントを提供する。
【００２３】
別の態様において、本発明は、以下の特性：
（１）ヒト／カニクイザルＢＤＣＡ２タンパク質に高い親和性で結合すること、例えば、１．０×１０$^{-6}$Ｍ以下のＫＤ値、５．０×１０$^{-7}$Ｍ以下のＫＤ値、２．５×１０$^{-}$

^{7}Ｍ以下のＫＤ値、１．０×１０$^{-7}$Ｍ以下のＫＤ値、５．０×１０$^{-8}$Ｍ以下のＫＤ値、２．５×１０$^{-8}$Ｍ以下のＫＤ値、１．０×１０$^{-8}$Ｍ以下のＫＤ値、５．０×１０$^{-9}$Ｍ以下のＫＤ値、２．５×１０$^{-9}$Ｍ以下のＫＤ値、１．０×１０$^{-9}$Ｍ以下のＫＤ値、５．０×１０$^{-10}$Ｍ以下のＫＤ値、２．５×１０$^{-10}$Ｍ以下のＫＤ値、１．０×１０$^{-10}$Ｍ以下のＫＤ値、１．０×１０$^{-10}$Ｍ以下のＫＤ値、５．０×１０$^{-10}$Ｍ以下のＫＤ値を示すこと；

（２）ヒトＰＢＭＣ細胞からのサイトカインＩＦＮα放出を促すＣｐＧ－Ａ刺激を阻害すること、例えば、その結果、標的細胞によるＩＦＮαの産生が少なくとも１０％、少なくとも２０％、少なくとも３０％、少なくとも４０％、少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、または少なくとも９５％低減すること；

（３）ＢＤＣＡ２に結合した際に細胞表面からのＢＤＣＡ２の細胞内移行を促進すること、例えば、その結果、細胞表面のＢＤＣＡ２分子の少なくとも１０％、少なくとも２０％、少なくとも３０％、少なくとも４０％、少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、または少なくとも９５％が細胞内移行されること

のうち１以上を有する単離された抗ＢＤＣＡ２抗体またはその抗原結合フラグメントを提供する。

【００２４】

いくつかの実施形態では、本発明の抗体は、モノクローナル抗体である。

【００２５】

本発明はまた、本明細書に記載される抗体またはその抗原結合フラグメントの軽鎖可変領域および重鎖可変領域を含む多重特異性抗体も提供する。

【００２６】

本発明はまた、本明細書に記載される抗体またはその抗原結合フラグメントの軽鎖可変領域および重鎖可変領域を含む一本鎖抗体も提供する。

【００２７】

本発明はまた、治療薬または診断薬に結合された本明細書に記載されるような抗体またはその抗原結合フラグメントを含む免疫複合体も提供し、好ましくは、治療薬または診断薬は、抗炎症薬または免疫抑制薬である。

【００２８】

さらなる態様において、本発明は、本明細書に記載される抗ＢＤＣＡ２抗体またはその抗原結合フラグメントをコードするポリヌクレオチド分子を提供する。

【００２９】

さらなる態様において、本発明は、本明細書に記載されるポリヌクレオチド分子を含む発現ベクターを提供し、好ましくは、ベクターは、真核生物発現ベクターである。

【００３０】

さらなる態様において、本発明は、本明細書に記載されるポリヌクレオチド分子または本明細書に記載される発現ベクターを含む宿主細胞を提供し、好ましくは、宿主細胞は、真核細胞、より好ましくは、哺乳動物細胞である。

【００３１】

さらに別の態様では、本発明は、本明細書に記載される抗ＢＤＣＡ２抗体またはその抗原結合フラグメントを作製する方法であって、本明細書に記載される宿主細胞において、前記抗体またはその抗原結合フラグメントの発現に好適な条件下で前記抗体またはその抗原結合フラグメントを発現させること、および発現した抗体またはその抗原結合フラグメントを前記宿主細胞から回収することを含む方法を提供する。

【００３２】

さらなる態様において、本発明は、本明細書に記載される抗ＢＤＣＡ２抗体またはその抗原結合フラグメント、および薬学上許容される担体または賦形剤を含む医薬組成物を提供する。

【００３３】
さらなる態様において、本発明は、本明細書に記載されるような抗体、もしくはその抗原結合フラグメント、または医薬組成物を、１以上の付加的治療薬とともに含む医薬組合せを提供する。
【００３４】
さらに別の態様では、本発明は、対象の免疫細胞からのサイトカインＩＦＮα放出を阻害する方法であって、本明細書に記載される抗ＢＤＣＡ２抗体もしくはその抗原結合フラグメントまたは医薬組成物を前記対象の免疫細胞と接触させることを含み、好ましくは、前記免疫細胞はＣｐＧ－Ａにより刺激されたＰＢＭＣ細胞である方法を提供する。
【００３５】
さらなる態様において、本発明は、ＢＤＣＡ２介在疾患の治療および／または予防のための薬剤の製造における、本明細書に記載されるような抗体もしくはその抗原結合フラグメント、本明細書に記載されるような医薬組成物、または本明細書に記載されるような医薬組合せの使用を提供し、好ましくは、前記疾患は炎症性疾患であり、より好ましくは、炎症性疾患は、全身性エリテマトーデス、円板状ループス、ループス腎炎、皮膚エリテマトーデス、関節リウマチ、炎症性腸疾患、全身性強皮症（強皮症）、乾癬、Ｉ型糖尿病、皮膚筋炎および多発性筋炎からなる群から選択される。
【００３６】
さらなる態様において、本発明は、ＢＤＣＡ２介在疾患の治療および／または予防における使用のための本明細書に記載されるような抗体もしくはその抗原結合フラグメント、本明細書に記載されるような医薬組成物または本明細書に記載されるような医薬組合せを提供し、好ましくは、前記疾患は炎症性疾患であり、より好ましくは、炎症性疾患は、全身性エリテマトーデス、円板状ループス、皮膚エリテマトーデス、ループス腎炎、関節リウマチ、炎症性腸疾患、全身性強皮症（強皮症）、乾癬、Ｉ型糖尿病、皮膚筋炎および多発性筋炎からなる群から選択される。
【００３７】
さらに別の態様では、本発明は、ＢＤＣＡ２介在疾患または障害を治療および／または予防する方法であって、それを必要とする対象に治療上または予防上有効な量の本明細書に記載される抗体もしくはその抗原結合フラグメント、本明細書に記載される医薬組成物、または本明細書に記載される医薬組合せを投与することを含む方法を提供し、好ましくは、前記疾患は炎症性疾患であり、より好ましくは、炎症性疾患は、全身性エリテマトーデス、円板状ループス、ループス腎炎、皮膚エリテマトーデス、関節リウマチ、炎症性腸疾患、全身性強皮症（強皮症）、乾癬、Ｉ型糖尿病、皮膚筋炎および多発性筋炎からなる群から選択される。
【００３８】
さらなる態様において、本発明は、本明細書に記載される抗体もしくはその抗原結合フラグメント、本明細書に記載される医薬組成物、または本明細書に記載される医薬組合せを含み、好ましくは、投与装置をさらに含むキットを提供する。
【００３９】
さらに別の態様では、本発明は、本明細書に記載される抗体もしくはその抗原結合フラグメントまたは抗体もしくはその抗原結合フラグメントを含有する検出組成物を用いて、サンプル中のＢＤＣＡ２の存在を検出する方法を提供する。
【図面の簡単な説明】
【００４０】
【図１－１】図１は、ヒトＢＤＣＡ２分子を発現するヒトＣＨＯＫ１－ｈＢＤＣＡ２安定トランスフェクト細胞へのハイブリドーマ抗体の結合を検出するＦＡＣＳアッセイの結果を示す。パネルａ～ｅはそれぞれ、凡例で示すような種々のハイブリドーマからの抗体を表す。
【図１－２】図１－１の続きである。
【図１－３】図１－２の続きである。

【図２－１】図２は、カニクイザルＢＤＣＡ２分子を発現する安定トランスフェクト細胞２９３Ｆ－ｃｙｎｏＢＤＣＡ２へのハイブリドーマ抗体の結合を検出するＦＡＣＳアッセイの結果を示す。パネルａ～ｅはそれぞれ、凡例で示すような種々のハイブリドーマからの抗体を表す。
【図２－２】図２－１の続きである。
【図２－３】図２－２の続きである。
【図３－１】図３は、ＦＡＣＳにより検出されるヒトＣＨＯＫ１－ｈＢＤＣＡ２細胞に対する抗ＢＤＣＡ２キメラ抗体の結合アッセイの結果を示す。パネルａ～ｃはそれぞれ、凡例で示すような種々のキメラ抗体の結果を表す。
【図３－２】図３－１の続きである。
【図４－１】図４は、ヒト化抗体の細胞内移行能の検出を示す。パネルａは、ｈｕ００５群における濃度１００ｎＭでのヒト化抗体の結果である。パネルｂは、ｈｕ００５群における濃度１０ｎＭでのヒト化抗体の結果である。パネルｃは、ｈｕ０３３群における濃度１００ｎＭでのヒト化抗体の結果である。パネルｄは、ｈｕ０３３群における濃度１０ｎＭでのヒト化抗体の結果である。
【図４－２】図４－１の続きである。
【図４－３】図４－２の続きである。
【図５－１】図５は、ＦＡＣＳアッセイにより決定したＦｃ操作抗体の細胞との結合能を示す。パネルａは、ＣＨＯＫ１－ヒトｈＢＤＣＡ２細胞との結合のアッセイ結果である。パネルｂは、２９３－Ｃｙｎｏ　ＢＤＣＡ２細胞との結合のアッセイ結果である。
【図５－２】図５－１の続きである。
【図６－１】図６は、Ｆｃ操作ヒト化抗体の細胞内移行能のＦＡＣＳ検出を示す。パネルａは、濃度１００ｎＭで決定したヒト化抗体のＭＦＩを示す。パネルｂは、濃度１０ｎＭで決定したヒト化抗体のＭＦＩを示す。パネルｃは、濃度１ｎＭで決定したヒト化抗体のＭＦＩを示す。パネルｄは、濃度１００ｎＭで決定したヒト化抗体の表面シグナルパーセンテージを示す。パネルｅは、濃度１０ｎＭで決定したヒト化抗体の表面シグナルパーセンテージを示す。パネルｆは、濃度１ｎＭで決定したヒト化抗体の表面シグナルパーセンテージを示す。
【図６－２】図６－１の続きである。
【図６－３】図６－２の続きである。
【図７】図７は、ＳＬＥ－ＩＣにより誘導されるＰＢＭＣからのＩＦＮα分泌のＦｃ操作ヒト化抗体介在阻害を示す。
【発明を実施するための形態】
【００４１】
発明の詳細な説明
定義
本発明の実施には、特に断りのない限り、分子生物学（組換え技術を含む）、微生物学、細胞生物学、生化学および免疫学の従来技術を用いるが、これらは当技術分野の技術の範囲内である。
【００４２】
本発明をより容易に理解できるように、特定の技術用語および科学用語を以下に具体的に定義する。本明細書で使用される技術用語および科学用語または表現は、本明細書の他所で明確に定義されない限り、本発明が属する技術分野における当業者によって一般的に理解される意味を有する。当業者は、当技術分野における定義および用語に関して、少なくとも部分的に、Current Protocols in Molecular Biology（Ausubel）を特に参照することができる。アミノ酸残基の略号は、一般的に使用される２０個のＬ－アミノ酸のうちの１つを指すために当技術分野で使用される標準的な３文字コードおよび／または１文字コードに従う。特許請求の範囲を含め、本明細書で使用される単数形は、文脈が明らかにそうでないことを示さない限り、対応する複数形を含む。
【００４３】

「約」という用語は数値とともに使用される場合、限定されるものではないが、±５％、±２％、±１％、および±０．１％を含む、指定された数値より５％小さい下限値と指定された数値より５％大きい上限値を有する範囲内の数値を、そのような変動が開示された方法を実施するのに適切であることから、包含することを意味する。

【００４４】

「および／または」という用語は、選択肢のいずれか1つ、または選択肢のいずれか２つ以上の組合せを意味すると理解されるべきである。

【００４５】

本明細書で使用される場合、「または」という用語は、上記で定義された「および／または」と同じ意味を有すると理解されるべきである。例えば、「または」または「および／または」は、リストの項目に挿入される場合に包含である、すなわち、複数の要素または要素のリストのうち少なくとも１つ、また２つ以上の包含、また任意選択によりリストにない付加的項目の包含として解釈されるべきである。特許請求の範囲において使用される「のうちの１つだけ」、「の正確に１つ」、または「からなる」などの明確に別段のことを示す用語のみが、リスト中のただ１つの数またはただ１つの要素を指す。

【００４６】

「１つの(a)」および「１つの(an)」という語は、本明細書で使用される場合、文脈が別段のことを明確に示されない限り、「少なくとも１つ」を意味すると理解されるべきである。

【００４７】

本明細書において「ＢＤＣＡ２」という用語は、ｐＤＣ上で特異的に発現されるＩＩ型Ｃ型レクチンＢＤＣＡ２であり、Ｃ末端のシグナル細胞外糖鎖認識ドメイン（ＣＲＤ）、４５位のアスパラギン残基から２１３位のイソロイシン残基までの膜貫通領域、およびＮ末端の短い細胞質テール（シグナル伝達モチーフを持たない）からなる。ＢＤＣＡ２は、関連する膜貫通アダプターであるＦｃεＲＩγを介して細胞内シグナルを伝達する。抗体を介してＢＤＣＡ２が結合すると、ＦｃＲＩのリン酸化された免疫受容体チロシン依存性活性化モチーフ(immunoreceptor tyrosine-based activation motif)（ＩＴＡＭ）に脾臓チロシンキナーゼ（ＳＹＫ）が動員される。Ｓｙｋの活性化は、Ｂ細胞リンカー（ＢＬＮＫ）、ブルトン型チロシンキナーゼ（ＢＴＫ）、およびホスホリパーゼＣ２（ＰＬＣ２）の活性化をもたらし、それによりCa^{2+}が動員される。

【００４８】

「ＢＤＣＡ２」という用語には、ヒトＢＤＣＡ２の変異体、アイソフォーム、種の相同体、または他種のＢＤＣＡ２、およびＢＤＣＡ２の少なくとも１つの共通エピトープを有する類似体が含まれる。本用語には、特に断りのかい限り、プロセシングを受けていない全長ＢＤＣＡ２ならびに細胞内でのプロセシングから生じる任意の形態のＢＤＣＡ２を包含する。この用語は、「全長」、プロセシングを受けていないＢＤＣＡ２、ならびに細胞内でのプロセシングから生じる任意の形態のＢＤＣＡ２、またはその任意のフラグメント、例えばスプライス変異体もしくは対立遺伝子変異体を包含する。一実施形態では、ＢＤＣＡ２は、ヒトまたはカニクイザルのＢＤＣＡ２の全長、またはそのフラグメント（シグナルペプチドを欠くその成熟フラグメントなど）を指す。

【００４９】

「免疫反応」という用語は、例えば、リンパ球、抗原提示細胞、食細胞、顆粒球の作用、および前述の細胞または肝臓による抗体、サイトカイン、および補体を含む可溶性高分子の産生を指し、この作用により、侵入してきた病原体、病原体に感染した細胞もしくは組織、癌細胞、または自己免疫もしくは病的炎症の場合には正常なヒト細胞もしくは組織の選択的損傷、破壊、または人体からの排除がもたらされる。

【００５０】

「ヒト形質細胞様樹状細胞（ｐＤＣ）」という用語は、Ｔｏｌｌ様受容体（ＴＬＲ）リガンドに応答してＩ型インターフェロン（ＩＦＮ）を分泌する骨髄由来細胞の特殊な集団である。ｐＤＣは、細胞性免疫の重要な役割を担っており、免疫応答の誘導およびプライ

ミング、ならびに抗原寛容に関与している。ｐＤＣは通常のＤＣとは異なり、例えば、受容体を介した細胞内移行などを介して抗原を獲得する。パターン認識受容体によって活性化されたｐＤＣが産生するＩ型インターフェロンも抗原を提示する可能性があり、それにより自然免疫応答と獲得免疫応答が結びついている。同時に、ｐＤＣの過剰な活性化は免疫応答過程に悪影響を及ぼし、例えば自己免疫疾患をもたらすこともある。

【００５１】

「シグナル伝達経路」または「シグナル伝達活性」という用語は、成長因子の受容体への結合のような、典型的にはタンパク質－タンパク質相互作用によって開始される生化学的因果関係を指し、その関係は、シグナルが細胞のある部分からその細胞の別の部分に伝達されるという結果をもたらす。一般に、伝達には、シグナル伝達をもたらす一連の反応における１以上のタンパク質上の１以上のチロシン、セリン、またはスレオニン残基の特異的リン酸化が含まれる。最後の過程は、典型的には核内事象を含み、それにより遺伝子発現に変化をもたらす。

【００５２】

「活性」もしくは「生物活性」という用語、または「生物学的特性」もしくは「生物学的特徴」という用語は、本明細書では互換的に使用され、限定されるものではないが、エピトープ／抗原の親和性および特異性、ｉｎ　ｖｉｖｏまたはｉｎ　ｖｉｔｒｏにおけるＢＤＣＡ２活性の中和または拮抗能、IC_{50}、抗体のｉｎ　ｖｉｖｏ安定性、ならびに抗体の免疫原性が含まれる。当技術分野で周知の抗体の他の識別可能な生物学的特性または特徴としては、例えば、交差反応性（すなわち、典型的には標的ペプチドの非ヒト相同体との交差反応性、または他のタンパク質もしくは組織との交差反応性）、および哺乳動物細胞におけるタンパク質の高い発現レベルを維持する能力が含まれる。前述の特性または特徴は、当技術分野で周知の技術を用いて観察、決定または評価され、このような技術としては、限定されるものではないが、ＥＬＩＳＡ、ＦＡＣＳまたはＢＩＡＣＯＲＥプラズモン共鳴アッセイ、無制限ｉｎ　ｖｉｔｒｏまたはｉｎ　ｖｉｖｏ中和アッセイ、受容体結合、サイトカインまたは成長因子の産生および／または分泌、シグナル伝達、およびヒト、霊長類、または他の任意の起源を含む異なる起源の組織切片の免疫組織化学が挙げられる。

【００５３】

「抗体」という用語は、所望の生物活性を有するいずれの形態の抗体も指す。よって、この用語は最も広義で使用され、具体的には、限定されるものではないが、モノクローナル抗体（全長モノクローナル抗体を含む）、ポリクローナル抗体、多重特異性抗体（例えば、二重特異性抗体）、ヒト化抗体、完全ヒト抗体、キメラ抗体、およびラクダ化シングルドメイン抗体が挙げられる。

【００５４】

「単離された抗体」という用語は，結合化合物の精製状態を指し、この場合、分子が他の生体分子、例えば、核酸、タンパク質、脂質、糖、または細胞残渣および増殖培地などの他の物質を実質的に含まないことを意味する。「単離された」という用語は、本明細書に記載される結合化合物の実験的または治療的使用を著しく妨害するような量で存在しない限り、そのような物質が完全に存在しないこと、または水、バッファー、または塩が存在しないことを意味するものではない。

【００５５】

「モノクローナル抗体」という用語は、実質的に均質な抗体の集団から得られる抗体を指し、すなわち、集団を構成する個々の抗体は、微量に存在し得る可能性のある天然の突然変異以外は同一である。モノクローナル抗体は特異性が高く、これに対して、従来の（ポリクローナル）抗体調製物は一般に、異なるエピトープに対する（または特異的な）抗体を大量に含む。「モノクローナル」という修飾語は、実質的に均質な抗体集団から得られたものであるという抗体の特徴を示し、任意の特定の方法による抗体の産生を必要とすると解釈するべきではない。

【００５６】

「全長抗体」という用語は、天然に存在する場合には、少なくとも４本のペプチド鎖を含む免疫グロブリン分子を指し、２本の重（Ｈ）鎖と２本の軽（Ｌ）鎖はジスルフィド結合により相互接続されている。各重鎖は、重鎖可変領域（本明細書ではＶＨと略される）および重鎖定常領域（本明細書ではＣＨと略される）から構成される。重鎖定常領域は、ＣＨ１、ＣＨ２およびＣＨ３の３つのドメインからなる。各軽鎖は、軽鎖可変領域（本明細書ではＶＬと略される）および軽鎖定常領域から構成される。軽鎖定常領域は、１つのドメインＣＬから構成される。ＶＨおよびＶＬ領域は、超可変性を有する相補性決定領域（ＣＤＲ）とフレームワーク領域（ＦＲ）と呼ばれるより保存性の高い領域が挿入された領域にさらに細分することができる。各ＶＨまたはＶＬ領域は、アミノ末端からカルボキシル末端へ次の順序：ＦＲ１、ＣＤＲ１、ＦＲ２、ＣＤＲ２、ＦＲ３、ＣＤＲ３、ＦＲ４で３つのＣＤＲと４つのＦＲから構成される。重鎖および軽鎖の可変領域は、抗原と相互作用する結合ドメインを含む。抗体の定常領域は、免疫系の種々の細胞（例えば、エフェクター細胞）および古典的補体系の第１成分（Ｃｌｑ）を含む宿主組織または因子への免疫グロブリンの結合を媒介することができる。

【００５７】

抗体（「親抗体」）の「抗原結合フラグメント」という用語には、親抗体の少なくとも一部の結合特異性を保持する抗体のフラグメントまたは誘導体が含まれる。抗体の結合フラグメントの例としては、限定されるものではないが、当技術分野で周知のように、Ｆａｂ、Ｆａｂ’、Ｆ（ａｂ’）$_2$、およびＦｖフラグメント；ダイアボディ；直鎖抗体；一本鎖抗体分子、例えばｓｃ－Ｆｖ；ナノボディおよび抗体フラグメントから形成される多重特異性抗体が挙げられる。本発明のいくつかの好ましい実施形態では、本発明の抗原結合フラグメントは、Ｆａｂ、Ｆａｂ’、Ｆ（ａｂ’）$_2$およびＦｖフラグメント；ダイアボディ；直鎖抗体；一本鎖抗体分子、例えばｓｃ－Ｆｖ；ナノボディおよび抗体フラグメントから形成される多重特異性抗体からなる群から選択される。結合フラグメントまたは誘導体は一般に、抗原の結合活性をモル濃度で表す場合、その抗原結合活性の少なくとも１０％を保持する。好ましくは、結合フラグメントまたは誘導体は、親抗体の抗原結合親和性の少なくとも２０％、５０％、７０％、８０％、９０％、９５％または１００％またはそれを超える割合を保持する。また、抗体の抗原結合フラグメントはそれらの生物活性を有意に変化させない保存的または非保存的アミノ酸置換を含み得ることも企図される（抗体の「保存的変異体」または「機能保存的変異体」と呼ばれる）。「結合化合物」という用語は、抗体およびそれらの結合フラグメントの両方を指す。

【００５８】

「一本鎖Ｆｖ」または「ｓｃＦｖ」抗体という用語は、抗体のＶＨおよびＶＬドメインを含む抗体フラグメントを指し、これらのドメインは１本のポリペプチド鎖に存在する。ＦｖポリペプチドはＶＨドメインとＶＬドメインの間にポリペプチドリンカーをさらに含み、これによりｓｃＦｖは抗原結合に望まれる構造を形成することが可能となる。

【００５９】

「ドメイン抗体」という用語は、重鎖または軽鎖可変領域のみを含む免疫学的に機能的な免疫グロブリンフラグメントである。特定の場合では、２つ以上のＶＨ領域がペプチドリンカーに共有結合されて二価ドメイン抗体を形成する。二価ドメイン抗体の２つのＶＨ領域は、同じ抗原を標的としてもよいし、異なる抗原を標的としてもよい。

【００６０】

「二価抗体」という用語は、２つの抗原結合部位を含む。特定の場合では、両結合部位は同じ抗原特異性を有する。しかしながら、二価抗体は二重特異性であってもよい。

【００６１】

「ダイアボディ」という用語は、２つの抗原結合部位を有する小抗体フラグメントを指し、これらのフラグメントは、同じポリペプチド鎖において軽鎖可変ドメイン（ＶＬ）に連結された重鎖可変ドメイン（ＶＨ）を含む（ＶＨ－ＶＬまたはＶＬ－ＶＨ）。このドメインは、同じ鎖の２つのドメイン間の対合を可能とするには短くないリンカーを用いるこ

とで、別の鎖の相補的ドメインとの対合を余儀なくされ、２つの抗原結合部位を作り出す。

【００６２】

本開示において「マウス抗体」または「ハイブリドーマ抗体」という用語は、当技術分野の知識および技術に従って調製されるＢＤＣＡ２に対するモノクローナル抗体である。ＢＤＣＡ２抗原を調製時に試験対象に注射し、所望の配列または機能的特性を有する抗体を発現するハイブリドーマを単離した。ハイブリドーマ技術は、２種類の細胞を、双方の主要な特徴を維持しながら融合することによる。これらの２種類の細胞はそれぞれ、抗原免疫マウス脾細胞およびマウス骨髄腫細胞である。特定の抗原で免疫したマウス脾細胞（Ｂリンパ球）の主要な特徴は、その抗体分泌機能であって、ｉｎ　ｖｉｔｒｏ連続培養ではなく、そして、マウス骨髄腫細胞は培養条件下で分裂し、無限に増殖可能であり、すなわち、いわゆる不死性を有する。Ｂ細胞と骨髄腫細胞を融合させたハイブリッド細胞だけが、選択培地の作用下で培養を継続する能力を持ち、抗体分泌と細胞の不死性維持の両方を特徴とする細胞クローンを作出することができる。いくつかの実施形態では、本発明は、ＢＤＣＡ２タンパク質でマウスを免疫し、マウスの脾臓細胞と骨髄腫細胞を融合させることにより、陽性抗体を発現し得るハイブリドーマ細胞を得る。

【００６３】

「キメラ抗体」という用語は、第１の抗体の可変ドメインと第２の抗体の定常ドメインを有し、第１の抗体と第２の抗体が異なる種に由来する場合の抗体である。一般に、可変ドメインは齧歯類などの抗体（「親抗体」）から得られ、一方、定常ドメイン配列はヒト抗体から得られ、従って、得られるキメラ抗体は、親齧歯類抗体に比べてヒト対象における有害な免疫応答を誘導する可能性が低くなる。本発明のいくつかの実施形態では、齧歯類はマウスまたはラットである。本発明のいくつかの好ましい実施形態では、抗原に対するキメラ抗体の親和性は、親マウス抗体以上であるか、またはほとんど親マウス抗体以上である。

【００６４】

「ヒト化抗体」という用語は、ヒト抗体および非ヒト（例えば、マウス、ラット）抗体の両方に由来する配列を含む抗体の形態を指す。一般に、ヒト化抗体は、少なくとも１つ、典型的には２つの可変ドメインの実質的に全てを含み、超可変ループの全てまたは実質的に全てが非ヒト免疫グロブリンに相当し、フレームワーク（ＦＲ）領域の全てまたは実質的に全てがヒト免疫グロブリン配列のものである。ヒト化抗体は、任意選択により、ヒト免疫グロブリン定常領域（Ｆｃ）の少なくとも一部を含み得る。

【００６５】

「完全ヒト抗体」という用語は、ヒト免疫グロブリンタンパク質配列のみを含む抗体を指す。完全ヒト抗体は、完全ヒト抗体は、マウス、マウス細胞、またはマウス細胞由来のハイブリドーマで産生されたマウス糖鎖を含むことがある。 同様に、「マウス抗体」とは、マウス免疫グロブリン配列のみを含む抗体を指す。あるいは、完全ヒト抗体は、ラット、ラット細胞で、またはラット細胞由来のハイブリドーマで産生された場合、ラット糖鎖を含むことがある。同様に、「ラット抗体」とは、ラット免疫グロブリン配列のみを含む抗体を指す。

【００６６】

「アイソタイプ」抗体とは、重鎖定常領域遺伝子（例えばＩｇＭ、ＩｇＥ、ＩｇＧ、例えばＩｇＧｌ、ＩｇＧ２、またはＩｇＧ４）により産生されるクラスの抗体を指す。アイソタイプはまた、これらのクラスの１つの修飾型を含み、ここで，修飾は、Ｆｃ機能を変更するため、例えば、エフェクター機能またはＦｃ受容体への結合を増強または低減するために行われたものである。

【００６７】

本明細書において「Ｆｃ領域」という用語は、定常領域の少なくとも一部を含む免疫グロブリン重鎖のＣ末端領域を定義するために用いられる。この用語は、天然配列Ｆｃ領域および変異体Ｆｃ領域を含む。いくつかの実施形態では、ヒトＩｇＧ重鎖Ｆｃ領域は、Ｃ

ｙｓ２２６またはＰｒｏ２３０から重鎖のカルボキシル末端に及ぶ。しかしながら、Ｆｃ領域のＣ末端リシン（Ｌｙｓ４４７）は、存在してもしなくてもよい（この段落のナンバリングは、Rabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 第5版 Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD, 1991に記載されているような、ＥＵインデックスとも呼ばれるＥＵナンバリングシステムに従う）。

【００６８】

「エピトープ」という用語は、抗体に特異的に結合できるタンパク質の決定基を指す。エピトープは通常、アミノ酸または糖側鎖などの様々な化学的に活性な表面分子からなり、一般に、特異的な三次元構造特性ならびに特異的な電荷特性を有する。コンフォメーション型エピトープと非コンフォメーション型エピトープは、前者への結合は変性溶媒の存在下で失われるが後者への結合は失われないという点で区別される。

【００６９】

「交差反応」という用語は、本明細書に記載される場合、ヒト、サル、および／またはマウス（マウスまたはラット）起源の同じ標的分子の抗原のフラグメントへの結合を指す。「交差反応」とは、抗原結合分子（例えば、抗体）と、異種で発現する同族分子（例えば、ＢＤＣＡ２）との種間反応として理解されるべきである。ヒトＢＤＣＡ２、サル、および／またはマウスＢＤＣＡ２（マウスまたはラット）を認識するモノクローナル抗体の交差反応の特異性は、ＦＡＣＳ分析によって決定することができる。

【００７０】

「親和性」または「結合親和性」とは、結合対のメンバー間の相互作用を反映する固有の結合親和性を指す。分子Ｘのそのパートナー Ｙに対する親和性は一般に、平衡解離定数（K_D）で表すことができ、平衡解離定数は解離および会合速度定数（それぞれk_{dis}およびk_{on}）の比である。親和性は、当技術分野で公知の一般的な方法によって測定することができる。本発明のいくつかの実施形態では、親和性、例えば、本発明の抗体と抗原の間の親和性は、表面プラズモン共鳴（ＳＰＲ）技術を用いて測定される。本発明のいくつかの好ましい実施形態では、親和性を測定するための１つの特定の方法は、本明細書におけるＢＩＡｃｏｒｅ法である。

【００７１】

タンパク質または細胞に「結合しない」という用語は、タンパク質もしくは細胞に全く結合しないこと、またはタンパク質もしくは細胞に高い親和性では結合しないこと、すなわち、$１．０\times１０^{-6}$Ｍ以上、より好ましくは$１．０\times１０^{-5}$Ｍ以上、より好ましくは$１．０\times１０^{-4}$Ｍ以上、$１．０\times１０^{-3}$Ｍ以上、より好ましくは$１．０\times１０^{-2}$Ｍ以上のK_Dでタンパク質もしくは細胞に結合することを指す。

【００７２】

ＩｇＧ抗体に対する「高い親和性」という用語は、抗原に対して$１．０\times１０^{-6}$Ｍ以下、好ましくは$５．０\times１０^{-8}$Ｍ以下、より好ましくは$１．０\times１０^{-8}$Ｍ以下、$５．０\times１０^{-9}$Ｍ以下、より好ましくは$１．０\times１０^{-9}$Ｍ以下のK_Dを指す。他の抗体アイソフォームに対する「高い親和性」の結合は異なる場合がある。例えば、ＩｇＭアイソフォームに対する「高い親和性」の結合は、１０^{-6}Ｍ以下、好ましくは１０^{-7}Ｍ以下、より好ましくは１０^{-8}Ｍ以下のK_Dを指す。

【００７３】

「抗体依存性細胞傷害性」、「抗体依存性細胞媒介細胞傷害性」または「ＡＤＣＣ」という用語は、免疫系エフェクター細胞が、細胞膜表面抗原が抗体に結合する標的細胞を活発に溶解する細胞媒介性免疫防御を指す。

【００７４】

「補体依存性細胞傷害性」または「ＣＤＣ」という用語は、表面抗原に結合した際に、膜侵襲複合体の形成および標的細胞の溶解を含む古典的補体経路を惹起する、ＩｇＧおよびＩｇＭ抗体のエフェクター機能を指す。

【００７５】

「核酸」、「ポリヌクレオチド」、「核酸分子」および「ポリヌクレオチド分子」という用語は、本明細書では互換的に使用され（文脈が別段のことを示さない限り）、一本鎖形態または二本鎖形態のデオキシリボ核酸（ＤＮＡ）またはリボ核酸（ＲＮＡ）およびそのポリマーを指す。明示的に限定されない限り、そうでなければ、この用語は、参照核酸と類似の結合特性を有し、天然に存在するヌクレオチドと類似の様式で代謝される天然ヌクレオチドの既知の類似体を含む核酸を含む（ウリジンがシュードウリジンで置換されたｍＲＮＡ分子、前記ｍＲＮＡ分子の合成方法、およびｉｎ　ｖｉｖｏにおける治療用タンパク質の送達方法を開示する、Ｋａｒｉｋｏらに対する米国特許第８，２７８，０３６号を参照）。特定の核酸配列はまた、特に断りのない限り、明示的に示された配列と同様に、その保存的に改変された変異体（例えば、縮重コドン置換）、対立遺伝子、相同分子種、ＳＮＰ、および相補配列を暗に包含する。具体的には、縮重コドン置換は、１以上の選択された（または全ての）コドンの３位が混合塩基および／またはデオキシイノシン残基で置換された配列を生成することによって達成することができる(Batzer et al., Nucleic Acid Res. 19: 5081 (1991); 260: 2605-2608 (1985);およびRossolini et al., Mol. Cell. Probes 8:91-98(1994))。

【００７６】

「構築物」とは、機能的に作動する様式で連結された（すなわち、作動可能に連結された）１以上のポリヌクレオチドを含む、ゲノムとの統合または自律的複製が可能な任意の起源のいずれの組換えポリヌクレオチド分子（プラスミド、コスミド、ウイルス、自律的複製ポリヌクレオチド分子、バクテリオファージ、または直鎖もしくは環状一本鎖もしく二本鎖ＤＮＡもしくはＲＮＡポリヌクレオチド分子）を指す。本発明のいくつかの好ましい実施形態では、組換え構築物は、宿主細胞において本発明のポリヌクレオチドの転写を駆動および／または命令する転写開始調節配列に作動可能に連結された本発明のポリヌクレオチドを含む。異種プロモーターおよび非異種（すなわち、内因性）プロモーターはいずれも、本発明のポリヌクレオチドの発現を駆動および／または命令するために使用することができる。

【００７７】

「ベクター」とは、任意の組換えポリヌクレオチド構築物を指し、この構築物は形質転換（すなわち、宿主細胞への異種ＤＮＡの導入）の目的で使用することができる。ベクターの一種は「プラスミド」であり、環状の二本鎖ＤＮＡループを指し、このループに付加的ＤＮＡセグメントをライゲーションすることができる。別のタイプのベクターとしてウイルスベクターがあり、ウイルスゲノム中に付加的ＤＮＡをライゲーションすることができる。ある種のベクターは、導入された宿主細胞内で自律複製が可能である（例えば、細菌複製起点を有する細菌ベクターおよびエピソーム型哺乳動物ベクター）。他のベクター（例えば、非エピソーム型哺乳動物ベクター）は、宿主細胞に導入されると宿主細胞のゲノムに組み込まれるため、宿主ゲノムとともに複製される。さらに、ある種のベクターは、作動可能に連結された遺伝子の発現を命令することができる。このようなベクターを本明細書では「発現ベクター」と呼ぶ。

【００７８】

「発現ベクター」という用語は、本明細書で使用される場合、宿主細胞に形質転換、トランスフェクトまたは形質導入された際に、目的遺伝子を複製および発現することができる核酸分子を指す。発現ベクターは、１以上の表現型選択マーカーおよびベクターの維持を保証し、必要であれば宿主での増幅を提供するための複製起点を含む。本発明の好ましい実施形態では、本発明の発現ベクターは、本発明の構築物および／または本発明のポリヌクレオチドを含む。

【００７９】

細胞または受容体に対する「活性化」、「刺激」および「処理」の操作は同じ意味を有し、文脈が別段のことを示さない限りまたは明示しない限り、例えば、細胞または受容体はリガンドで活性化、刺激または処理される。「リガンド」には、天然および合成リガンド、例えば、サイトカイン、サイトカイン変異体、類似体、ムテイン、および抗体由来結

合化合物が含まれる。「リガンド」にはまた、小分子、例えば、サイトカインのペプチド模倣薬および抗体のペプチド模倣薬も含まれる。「活性化」は、内部機構ならびに外部または環境因子によって調節される細胞の活性化を指し得る。「応答／反応」、例えば、細胞、組織、器官、または生物の応答は、生化学的または生理学的挙動（例えば、生体コンパートメント内の濃度、密度、接着、または移動、遺伝子発現の速度、または分化の状態）の変化を含み、この変化は、活性化、刺激、もしくは処理に関連するか、または遺伝学的プログラミングなどの内部機構に関連する。

【００８０】

本明細書で使用される場合、「ＢＤＣＡ２介在疾患」という用語は、発症、進行、または移行の経過、例えば、ＢＤＣＡ２の活性化（例えば、異常な活性化または過剰な活性化）にＢＤＣＡ２の関与があり、このＢＤＣＡ２の関与が直接的または間接的に以下の影響：疾患の発症／発生、疾患の病理学的変化の増大／深化、疾患の影響部位／範囲の拡大、疾患による身体損傷の悪化、疾患による苦痛の増大、治療手段に対する疾患の感受性／抵抗性、疾患の自己治癒傾向の低下、および疾患の予後の悪化のうち少なくとも１つをもたらす疾患を指す。本発明のいくつかの実施形態では、ＢＤＣＡ２介在疾患は炎症性疾患であり、本発明のいくつかの特定の実施形態において、ＢＤＣＡ２介在疾患は、全身性エリテマトーデス、円板状ループス、ループス腎炎、皮膚エリテマトーデス、関節リウマチ、炎症性腸疾患、全身性強皮症（強皮症）、乾癬、Ｉ型糖尿病、皮膚筋炎，および／または多発性筋炎である。

【００８１】

本明細書で使用される場合、任意の疾患または障害の「治療（treatingまたはtreatment）」という用語は、一実施形態では、疾患または障害を改善すること（すなわち、疾患またはその臨床症状の少なくとも１つの進行を遅らせるか、または停止させるか、または軽減すること）を指す。別の実施形態では、「治療」とは、患者が認識できない可能性のある身体的パラメーターを含む、少なくとも１つの身体的パラメーターを緩和または改善することを指す。別の実施形態では、「治療」とは、身体的（例えば、認識可能な症状の安定化）、生理学的（例えば、身体的パラメーターの安定化）のいずれか、または両方で、疾患または障害を調節することを指す。疾患の治療および／または予防を評価するための方法は、本明細書で特に説明しない限り、当技術分野で一般的に知られている。

【００８２】

「対象」は、任意のヒトまたは非ヒト動物を含む。「非ヒト動物」という用語は、全ての脊椎動物、例えば、哺乳動物および非哺乳動物、例えば、非ヒト霊長類、ヒツジ、イヌ、ネコ、ウマ、ウシ、ニワトリ、両生類、爬虫類などを含む。本明細書で使用される場合、「ｃｙｎｏ」または「カニクイザル」という用語は、カニクイザルまたはカニクイザル由来を指す。

【００８３】

１以上の付加的治療薬の「併用」投与には、同時（ｃｏ）投与および任意の順序の逐次投与が含まれる。

【００８４】

「治療上有効な量」、「治療上有効な用量」および「有効な量」とは、本発明のＢＤＣＡ２抗体またはその抗原結合フラグメントが細胞、組織、または対象に単独投与または他の治療薬と併用投与された際に、疾患もしくは病態の１以上の症状、または疾患もしくは病態の発症を予防または改善するのに有効な量を指す。また、治療上有効な用量とは、症状の改善をもたらすのに十分な抗体またはその抗原結合フラグメントの量、例えば、関連する病態を治療、治癒、予防、もしくは改善する量、またはそのような病態の治療、治癒、予防、もしくは改善の割合を増加させる量を指す。治療上有効な用量とは、単独で与えられた場合の有効成分単独が対象に投与される場合を指す。治療上有効な用量とは、併用であれ逐次であれ同時であれ、組み合わせて投与した場合に治療効果をもたらす有効成分の合算量を指す。治療薬の有効量は、少なくとも１０％、通常少なくとも２０％、好ましくは少なくとも約３０％、より好ましくは少なくとも４０％、最も好ましくは少なくとも

５０％の診断基準またはパラメーターの増加をもたらす。
【００８５】
「薬学上許容される担体」とは、医薬製剤または組成物中の有効成分以外の、対象に非毒性の成分を指す。薬学上許容される担体としては、限定されるものではないが、バッファー、賦形剤、安定剤、または保存剤が挙げられる。
【００８６】
抗ＢＤＣＡ２抗体
一態様において、本発明は、ＢＤＣＡ２と特異的に結合する抗体またはその抗原結合フラグメントを提供する。「抗ＢＤＣＡ２抗体」、「抗ＢＤＣＡ２」、「ＢＤＣＡ２抗体」または「ＢＤＣＡ２と結合する抗体」という用語は、ＢＤＣＡ２を標的とする場合に抗体が診断薬および／または治療薬として使用可能となる十分なアビディティでＢＤＣＡ２タンパク質またはそのフラグメントと結合し得る抗体を指す。
【００８７】
いくつかの実施形態では、本発明の抗体は、ヒトまたはカニクイザルＢＤＣＡ２タンパク質に結合する。いくつかの実施形態では、本発明の抗体は、ＣＨＯＫ１－ヒトＢＤＣＡ２細胞または２９３Ｆ－ｃｙｎｏＢＤＣＡ２細胞に結合する。いくつかの実施形態では、本発明の抗体は、ＣｐＧ－Ａが、サイトカインＩＦＮαを放出するようにヒトＰＢＭＣ細胞を刺激することを阻害する。いくつかの実施形態では、本発明の抗体はより大きい細胞内移行能を有する。
【００８８】
本発明の抗体を生産するために、抗体を生産するためのいずれの適切な方法も使用可能である。ＢＤＣＡ２のいずれの適切な形態も、抗体を生産するための免疫原（抗原）として使用可能である。例として、限定されるものではないが、任意のＢＤＣＡ２変異体またはそのフラグメントが免疫原として使用可能である。いくつかの実施形態では、マウス起源のモノクローナル抗ＢＤＣＡ２抗体を産生するハイブリドーマ細胞が、当技術分野で周知の方法により生産可能である。
【００８９】
マウスなどの齧歯類に由来する抗体は、治療薬としてｉｎ　ｖｉｖｏで使用される場合、抗体の望ましくない免疫原性を引き起こす可能性があり、繰り返し使用されることにより、ヒトの体内で治療用抗体に対する免疫応答が生じ、このような免疫応答は少なくとも治療効果の損失をもたらし、重篤な場合には致死的なアナフィラキシーを引き起こす可能性がある。齧歯類抗体の免疫原性を低下させる１つの方法として、キメラ抗体の作製が挙げられ、この場合、マウス可変領域がヒト定常領域に融合されている(Liu et al. (1987) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 84: 3439-43)。しかしながら、キメラ抗体には無傷の齧歯類可変領域が保持されているので、患者において有害な免疫原性がなお引き起こされる可能性がある。齧歯類配列をさらに最小化するために、ヒトフレームワークへの齧歯類可変ドメインの相補性決定領域（ＣＤＲ）ループのグラフト（すなわち、ヒト化）が使用されている(Jones et al. (1986) Nature 321: 522; Verhoeyen et al (1988) Science 239: 1534)。いくつかの実施形態では、本発明の抗体はキメラ抗体である。いくつかの好ましい実施形態では、本発明の抗体はヒト化抗体である。本発明のいくつかの好ましい実施形態では、本発明のマウス抗体、キメラ抗体および／またはヒト由来抗体の抗原ヒトＢＤＣＡ２またはカニクイザルＢＤＣＡ２に対する親和性は、１．０×１０$^{-6}$Ｍ以下のＫＤ値、５．０×１０$^{-7}$Ｍ以下のＫＤ値、２．５×１０$^{-7}$Ｍ以下のＫＤ値、１．０×１０$^{-7}$Ｍ以下のＫＤ値、５．０×１０$^{-8}$Ｍ以下のＫＤ値、２．５×１０$^{-8}$Ｍ以下のＫＤ値、１．０×１０$^{-8}$Ｍ以下のＫＤ値、５．０×１０$^{-9}$Ｍ以下のＫＤ値、２．５×１０$^{-9}$Ｍ以下のＫＤ値、１．０×１０$^{-9}$Ｍ以下のＫＤ値、５．０×１０$^{-10}$Ｍ以下のＫＤ値、２．５×１０$^{-10}$Ｍ以下のＫＤ値、１．０×１０$^{-10}$Ｍ以下のＫＤ値として具現化されている。
【００９０】
本発明の抗ＢＤＣＡ２マウス抗体の軽鎖および重鎖可変領域ならびにＣＤＲのアミノ酸

配列を表２に示す。
【００９１】
いくつかの実施形態では、本発明のキメラまたはヒト化抗体は、作製済みの前記マウスモノクローナルハイブリドーマ抗体の配列に基づいて作製することができる。重鎖および軽鎖免疫グロブリンをコードするＤＮＡは、標準的な分子生物学技術を用いて、対象とするマウスハイブリドーマから取得し、非マウス（例えば、ヒト）免疫グロブリン配列を含むように操作することができる。
【００９２】
いくつかの実施形態では、ハイブリドーマ由来免疫グロブリン重鎖および軽鎖可変領域を、当技術分野で公知の方法（例えば、Ｃａｂｉｌｌｙらの米国特許第４号）を用いてヒトＩｇＧ定常領域に作動可能に連結してキメラ重鎖およびキメラ軽鎖を得、これにより本発明のキメラＢＤＣＡ２抗体が作出される。いくつかの実施形態では、本発明のキメラ抗体は、ＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３、ＩｇＧ４などの任意のヒトＩｇＧサブタイプ、好ましくはＩｇＧ１から選択される定常領域を含む。
【００９３】
いくつかの実施形態では、本発明のキメラＢＤＣＡ２抗体は、キメラ軽鎖発現プラスミドおよびキメラ重鎖発現プラスミドによりトランスフェクトされた「混合・適合型」である発現細胞から得ることができ、そのような「混合・適合型」抗体のＢＤＣＡ２結合は、上記の結合アッセイおよび他の従来の結合アッセイ（例えば、ＥＬＩＳＡ）を用いて試験することができる。
【００９４】
本発明の抗体の可変領域ＣＤＲの正確なアミノ酸配列境界は、抗体の三次元構造とＣＤＲループのトポロジーに基づくＣｈｏｔｈｉａ(Chothia et al. (1989) Nature 342: 877-883; Al-Lazikani et al., "Standard conformations for the canonical structures of immunoglobulins", Journal of Molecular Biology, 273, 927-948 (1997))、抗体配列の変動に基づくＫａｂａｔ(Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 第4版, U.S. Department of Health and Human Services, National Institutes of Health (1987))、ＡｂＭ（バース大学）、Ｃｏｎｔａｃｔ（Ｕｎｉｖｅｒｓｉｔｙ Ｃｏｌｌｅｇｅ Ｌｏｎｄｏｎ）、Ｉｎｔｅｒｎａｔｉｏｎａｌ ＩｍＭｕｎｏＧｅｎｅＴｉｃｓデータベース（ＩＭＧＴ）(1999 Nucleic Acids Research, 27, 209-212)、および多数の結晶構造を利用した親和性伝播クラスタリングに基づくＮｏｒｔｈ ＣＤＲ定義を含むいくつかの周知のプロトコールのいずれかを用いて決定することができる。
【００９５】
本発明の抗体のＣＤＲの境界は、特に断りのない限り、当業者により、当技術分野の任意のプロトコール（例えば、異なる割り当てシステムまたは組合せ）に従って決定することができる。
【００９６】
異なる割り当てシステムに基づいて得られた同じ抗体の可変領域のＣＤＲの境界は異なる可能性があることに留意すべきである。すなわち、異なる割り当てシステムの下で定義された同じ抗体の可変領域のＣＤＲ配列は異なる可能性がある。従って、本明細書で定義される特定のＣＤＲ配列を有する抗体を定義するという場合には、抗体の範囲は、可変領域の配列が特定のＣＤＲ配列を含むが、異なるスキーム（例えば、異なる割り当てシステムまたは組合せ）の適用により、特許請求されるＣＤＲの境界が本明細書で定義される特定のＣＤＲ境界と異なる抗体も包含する。
【００９７】
異なる特異性（すなわち、異なる抗原に対する異なる結合部位）を有する抗体は、異なるＣＤＲを有する。しかしながら、ＣＤＲは抗体ごとに異なるが、抗原結合に直接関与するのはＣＤＲ内の限られた数のアミノ酸位置だけである。最小重複領域は、Ｋａｂａｔ法、Ｃｈｏｔｈｉａ法、ＡｂＭ法、Ｃｏｎｔａｃｔ法、およびＮｏｒｔｈ法のうち少なくと

も２つを用いて決定することができ、それにより抗原結合のための「最小結合単位」を提供することができる。最小結合単位はＣＤＲの一部であってもよい。当業者には自明であるように、ＣＤＲ配列の残りの残基は、抗体の構造およびタンパク質の折りたたみによって決定することができる。従って、本明細書で示されるＣＤＲのいずれかの変異体もまた、本発明によって企図される。例えば、１つのＣＤＲの変異体において、最小結合単位のアミノ酸残基は変化しないままであってもよく、ＫａｂａｔまたはＣｈｏｔｈｉａ定義に従った残りのＣＤＲ残基は保存されたアミノ酸残基で置換されてもよい。

【００９８】

様々なキメラ重鎖および軽鎖発現プラスミドの混合ペアが発現細胞のトランスフェクトに使用され、それは抗ＢＤＣＡ２キメラ抗体である。

【００９９】

本明細書に記載されるヒト化抗体は、当技術分野で公知の方法を用いて、マウスＣＤＲ領域がヒト生殖細胞系フレームワーク領域に挿入されたものであり得る。Ｗｉｎｔｅｒらの米国特許第５，２２５，５３９号ならびにＱｕｅｅｎらの米国特許第５，５３０，１０１号、同第５，５８５，０８９号、同第５，６９３，７６２号および同第６，１８０，３７０号参照。

【０１００】

本発明の抗ＢＤＣＡ２ヒト化抗体Ｈｕ０３３－０３、Ｈｕ０３３－２０およびＨｕ００５－０４の軽鎖および重鎖アミノ酸配列を以下に示す。残りのヒト化抗体のＬＣおよびＨＣの可変領域の外側の配列は、対応するＨｕ０３３－０３、Ｈｕ０３３－２０およびＨｕ００５－０４の配列と同一である。

【０１０１】

Ｈｕ０３３－０３－ＨＣ－ＩｇＧ１：配列番号１８３（ＨＣＤＲ１～ＨＣＤＲ３についてはそれぞれ配列番号５２、３９および５３）

EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMSWVRQAPGKGLEWVSTISSGDSYT
YYPDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQIYYDYAYYFDFWGQGTTVT
VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQS
SGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGP
SVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST
YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTK
NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN

VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

Ｈｕ０３３－０３－ＬＣ：配列番号１８６（ＬＣＤＲ１～ＬＣＤＲ３についてはそれぞれ配列番号５４、５５および４２）

DIVLTQSPASLAVSPGQRATITCRASESVSFRTSHLMHWYQQKPGQPPKLLIYGASNLE
SGVPARFSGSGSETDFTLTINPVEAEDTANYFCQQSIEDPPTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFP
PSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLT
LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Ｈｕ０３３－２０－ＨＣ－ＩｇＧ１：配列番号１８４（ＨＣＤＲ１～ＨＣＤＲ３についてはそれぞれ配列番号５２、３９および５３）

EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFRSYGMSWVRQAPGKRLEWVSTISSGDSYT
YYPDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLKAEDTAVYYCARQIYYDYAYYFDFWGQGTTVT
VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQS
SGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGP
SVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST
YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTK
NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN
VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

Ｈｕ０３３－２０－ＬＣ：配列番号１８７（ＬＣＤＲ１～ＬＣＤＲ３についてはそれぞれ配列番号５４、５５および４２）

DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVSFRTSHLMHWYQQKPGQPPKLLIYGASNLE
SGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQSIEDPPTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFP
PSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLT
LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Ｈｕ００５－０４－ＨＣ－ＩｇＧ１：配列番号１８５（ＨＣＤＲ１～ＨＣＤＲ３についてはそれぞれ配列番号１１、１２および１３）

QVQLQQSGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSLTNYGVHWIRQPPGKGLEWIGVIWSGESTD
YDAAFISRVTISKDNSKNQVSLKLSSVTAADTAVYYCARRRSHYYGYVMDYWGQGTTVT
VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQS
SGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGP
SVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST
YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTK
NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN
VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

Ｈｕ００５－０４－ＬＣ：配列番号１８８（ＬＣＤＲ１～ＬＣＤＲ３についてはそれぞれ配列番号８６、１５および１６）

DIVLTQSPASLAVSPGQRATITCKASQSIDYdaIGYLNWYQQKPGQPPKLLIYAASNLES
GVPARFSGSGSGTDFTLTINPVEANDTANYYCQQSNEDPPTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFP
PSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLT
LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

【０１０２】

いくつかの実施形態では、アミノ酸変異は、アミノ酸欠失、挿入、または置換を含む。いくつかの実施形態では、本発明の抗ＢＤＣＡ２抗体またはそれらの抗原結合フラグメントには、アミノ酸欠失、挿入、または置換により変異しているが、上記抗体と、特に、上記の配列で示されたＣＤＲ領域において少なくとも約９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％または１００％同一であるアミノ酸配列をなお有するものを含む。いくつかの実施形態では、本発明の抗体は、特定の配列で示されたＣＤＲ領域と比較した場合に、ＣＤＲ領域中のアミノ酸欠失、挿入、または置換により変異したアミノ酸が１、２、３、４、または５個以下である。いくつかの実施形態では、本発明の抗体は、特定の配列内のフレームワーク領域と比較した場合に、フレームワ

ーク領域のアミノ酸欠失、挿入、または置換より変異したアミノ酸が１、２、３、４、または５個以下である。

【０１０３】

いくつかの実施形態では、本発明者のヒト化抗体Ｈｕ０３３－０３およびＨｕ０３３－２０のＦｃ領域は、Ｓ２３９Ｄ／Ｉ３３２Ｅ、Ｇ２３６Ａ／Ｓ２３９Ｄ／Ｉ３３２Ｅ、およびＧ２３６Ａ／Ｉ３３２Ｅなどの変異があり、以下の抗体：Ｈｕ０３３－０３－Ｔ１、Ｈｕ０３３－０３－Ｔ２、Ｈｕ０３３－０３－Ｔ３、Ｈｕ０３３－２０－Ｔ１、Ｈｕ０３３－２０－Ｔ２、Ｈｕ０３３－２０－Ｔ３となり、その軽鎖および重鎖アミノ酸配列を以下に示す。

Ｈｕ０３３－０３－Ｔ１－ＨＣ：配列番号１９１

EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMSWVRQAPGKGLEWVSTISSGDSYT
YYPDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQIYYDYAYYFDFWGQGTTVT
VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQS
SGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGP
DVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS
TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPEEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT
KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG
NVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

Ｈｕ０３３－０３－Ｔ２－ＨＣ：配列番号１９２

EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMSWVRQAPGKGLEWVSTISSGDSYT
YYPDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQIYYDYAYYFDFWGQGTTVT
VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQS
SGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLAGP
DVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS
TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPEEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT
KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG
NVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

Ｈｕ０３３－０３－Ｔ３－ＨＣ：配列番号１９３

EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMSWVRQAPGKGLEWVSTISSGDSYT
YYPDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQIYYDYAYYFDFWGQGTTVT
VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQS
SGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLAGP
SVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST
YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPEEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTK
NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN
VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

Ｈｕ０３３－０３－Ｔ１／Ｔ２／Ｔ３－ＬＣ：配列番号１８６

DIVLTQSPASLAVSPGQRATITCRASESVSFRTSHLMHWYQQKPGQPPKLLIYGASNLE
SGVPARFSGSGSETDFTLTINPVEAEDTANYFCQQSIEDPPTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFP
PSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLT
LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Ｈｕ０３３－２０－Ｔ１－ＨＣ：配列番号１９４

EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFRSYGMSWVRQAPGKRLEWVSTISSGDSYT
YYPDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLKAEDTAVYYCARQIYYDYAYYFDFWGQGTTVT
VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQS
SGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGP
DVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS
TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPEEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT
KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG
NVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

Ｈｕ０３３－２０－Ｔ２－ＨＣ：配列番号１９５

EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFRSYGMSWVRQAPGKRLEWVSTISSGDSYT
YYPDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLKAEDTAVYYCARQIYYDYAYYFDFWGQGTTVT
VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQS
SGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLAGP
DVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS
TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPEEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT
KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG
NVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

Ｈｕ０３３－２０－Ｔ３－ＨＣ：配列番号１９６

EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFRSYGMSWVRQAPGKRLEWVSTISSGDSYT
YYPDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLKAEDTAVYYCARQIYYDYAYYFDFWGQGTTVT
VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQS
SGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLAGP
SVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST
YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPEEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTK
NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN
VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

Ｈｕ０３３－２０－Ｔ１／Ｔ２／Ｔ３－ＬＣ：配列番号１８７

DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVSFRTSHLMHWYQQKPGQPPKLLIYGASNLE
SGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQSIEDPPTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFP
PSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLT
LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

【０１０４】

アミノ酸配列同一性パーセント（％）」または単に「同一性」という用語は、アミノ酸配列が配列同一性の最大パーセントを達成するようにアラインされ（必要に応じてギャップが導入され）、保存的置換を配列同一性の一部として考慮しない場合、参照アミノ酸配列において同一である候補アミノ酸配列におけるアミノ酸残基のパーセントと定義される。配列は、アミノ酸配列同一性のパーセントを決定するために、当技術分野における種々の方法を使用してアラインすることができ、例えば、ＢＬＡＳＴ、ＢＬＡＳＴ－２、ＡＬＩＧＮまたはＭＥＧＡＬＩＧＮ（ＤＮＡＳＴＡＲ）ソフトウエアなどの公開コンピューターソフトウェアを使用することができる。当業者ならば、比較される配列の全長にわたって最大のアラインメントを達成するために必要な任意のアルゴリズムを含む、アラインメントを測定するための適切なパラメーターを決定することができる。

【０１０５】

よって、いくつかの実施形態では、本発明の抗体は、下表Ａに任意の組合せで示されるＨＣＤＲ１、ＨＣＤＲ２、ＨＣＤＲ３、ＬＣＤＲ１、ＬＣＤＲ２およびＬＣＤＲ３を含む。

【０１０６】

表Ａ

組合せ#	以下の配列(または1、2もしくは3個のアミノ酸の違いを有する配列)を含むまたはからなるHCDR1	以下の配列(または1、2もしくは3個のアミノ酸の違いを有する配列)を含むまたはからなるHCDR2	以下の配列(または1、2もしくは3個のアミノ酸の違いを有する配列)を含むまたはからなるHCDR3	以下の配列(または1、2もしくは3個のアミノ酸の違いを有する配列)を含むまたはからなるLCDR1	以下の配列(または1、2もしくは3個のアミノ酸の違いを有する配列)を含むまたはからなるLCDR2	以下の配列(または1、2もしくは3個のアミノ酸の違いを有する配列)を含むまたはからなるLCDR3
1	配列番号1	配列番号2	配列番号3	配列番号4	配列番号5	配列番号6
2	配列番号7	配列番号2	配列番号8	配列番号9	配列番号10	配列番号6
3	配列番号11	配列番号12	配列番号13	配列番号14	配列番号15	配列番号16
4	配列番号17	配列番号12	配列番号13	配列番号18	配列番号15	配列番号16
5	配列番号19	配列番号20	配列番号21	配列番号22	配列番号23	配列番号24
6	配列番号25	配列番号26	配列番号27	配列番号28	配列番号29	配列番号30
7	配列番号31	配列番号32	配列番号33	配列番号34	配列番号35	配列番号36
8	配列番号25	配列番号26	配列番号37	配列番号28	配列番号29	配列番号30
9	配列番号38	配列番号39	配列番号40	配列番号41	配列番号15	配列番号42
10	配列番号31	配列番号43	配列番号27	配列番号44	配列番号45	配列番号30
11	配列番号31	配列番号46	配列番号47	配列番号34	配列番号48	配列番号49
12	配列番号31	配列番号50	配列番号47	配列番号34	配列番号48	配列番号49
13	配列番号31	配列番号46	配列番号47	配列番号34	配列番号51	配列番号49
14	配列番号25	配列番号50	配列番号47	配列番号34	配列番号51	配列番号49
15	配列番号31	配列番号50	配列番号47	配列番号34	配列番号51	配列番号49
16	配列番号25	配列番号50	配列番号47	配列番号34	配列番号51	配列番号49
17	配列番号52	配列番号39	配列番号53	配列番号54	配列番号55	配列番号42
18	配列番号25	配列番号56	配列番号47	配列番号34	配列番号35	配列番号49
19	配列番号11	配列番号12	配列番号13	配列番号86	配列番号15	配列番号16
20	配列番号52	配列番号39	配列番号53	配列番号86	配列番号15	配列番号16
21	配列番号11	配列番号12	配列番号13	配列番号54	配列番号55	配列番号42

【０１０７】

いくつかの実施形態では、本発明の抗体は、下表Ｂに任意の組合せで示されるＶＨおよびＶＬを含む。

【０１０８】

表 B

組合せ#	以下の配列(またはそれと少なくとも 95% 同一の配列)を含むまたはからなる VH	以下の配列(またはそれと少なくとも 95% 同一の配列)を含むまたはからなる VL
1	配列番号 61	配列番号 62
2	配列番号 65	配列番号 66
3	配列番号 67	配列番号 68
4	配列番号 69	配列番号 70
5	配列番号 71	配列番号 68
6	配列番号 72	配列番号 73
7	配列番号 76	配列番号 77
8	配列番号 80	配列番号 79
9	配列番号 82	配列番号 83
10	配列番号 87-110 のいずれか	配列番号 135-158 のいずれか
11	配列番号 111-134 のいずれか	配列番号 159-182 のいずれか
12	配列番号 89	配列番号 137
13	配列番号 106	配列番号 154
14	配列番号 114	配列番号 162

【０１０９】

いくつかの実施形態では、本発明の抗体は、下表Ｃに任意の組合せで示されるＶＨおよびＶＬを含む。

【０１１０】

表Ｃ

組合せ#	以下の配列(またはそれと少なくとも 95%同一の配列)を含むまたはからなる VH	以下の配列(またはそれと少なくとも 95%同一の配列)を含むまたはからなる VL	組合せ#	以下の配列(またはそれと少なくとも 95%同一の配列)を含むまたはからなる VH	以下の配列(またはそれと少なくとも 95%同一の配列)を含むまたはからなる VL
15	配列番号 87	配列番号 135	39	配列番号 111	配列番号 159
16	配列番号 88	配列番号 136	40	配列番号 112	配列番号 160
17	配列番号 89	配列番号 137	41	配列番号 113	配列番号 161
18	配列番号 90	配列番号 138	42	配列番号 114	配列番号 162
19	配列番号 91	配列番号 139	43	配列番号 115	配列番号 163
20	配列番号 92	配列番号 140	44	配列番号 116	配列番号 164
21	配列番号 93	配列番号 141	45	配列番号 117	配列番号 165
22	配列番号 94	配列番号 142	46	配列番号 118	配列番号 166
23	配列番号 95	配列番号 143	47	配列番号 119	配列番号 167
24	配列番号 96	配列番号 144	48	配列番号 120	配列番号 168
25	配列番号 97	配列番号 145	49	配列番号 121	配列番号 169
26	配列番号 98	配列番号 146	50	配列番号 122	配列番号 170
27	配列番号 99	配列番号 147	51	配列番号 123	配列番号 171
28	配列番号 100	配列番号 148	52	配列番号 124	配列番号 172
29	配列番号 101	配列番号 149	53	配列番号 125	配列番号 173
30	配列番号 102	配列番号 150	54	配列番号 126	配列番号 174
31	配列番号 103	配列番号 151	55	配列番号 127	配列番号 175
32	配列番号 104	配列番号 152	56	配列番号 128	配列番号 176
33	配列番号 105	配列番号 153	57	配列番号 129	配列番号 177
34	配列番号 106	配列番号 154	58	配列番号 130	配列番号 178
35	配列番号 107	配列番号 155	59	配列番号 131	配列番号 179
36	配列番号 108	配列番号 156	60	配列番号 132	配列番号 180
37	配列番号 109	配列番号 157	61	配列番号 133	配列番号 181
38	配列番号 110	配列番号 158	62	配列番号 134	配列番号 182

【０１１１】

いくつかの実施形態では、ＢＤＣＡ２抗体は、ＩｇＧ抗体、例えば、ＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３、もしくはＩｇＧ４抗体、または以下の節に記載されるように、その修飾型である。

【０１１２】

いくつかの実施形態では、Ｆｃ領域変異体は、本明細書で提供される抗体のＦｃ領域に１以上のアミノ酸修飾を導入することにより作製することができる。Ｆｃ領域変異体は、１以上のアミノ酸位にアミノ酸修飾（例えば、置換）を含むヒトＦｃ領域配列（例えば、ヒトＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３またはＩｇＧ４　Ｆｃ領域）を含み得る。

【０１１３】
いくつかの実施形態では、システイン操作抗体、例えば、抗体の１以上の残基がシステイン残基で置換されている「ｃｈｉｏＭＡｂ」を作出することが望ましい場合がある。
【０１１４】
いくつかの実施形態では、本明細書で提供される抗体は、当技術分野で公知であり、容易に入手できる付加的非タンパク質部分を含むようにさらに修飾してもよい。抗体の誘導体化に好適な部分としては、限定されるものではないが、水溶性ポリマーが挙げられる。水溶性ポリマーの限定されない例としては、限定されるものではないが、ポリエチレングリコール（ＰＥＧ）、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、ポリビニルピロリドン、ポリ－１，３－ジオキサン、ポリ－１，３，６－トリオキサン、エチレン／無水マレイン酸コポリマー、ポリアミノ酸（ホモポリマーまたはランダムコポリマーのいずれか）、およびデキストランまたはポリ（ｎ－ビニルピロリドン）ポリエチレングリコール、プロピレングリコールホモポリマー、ポリプロピレンオキシド／エチレンオキシドコポリマー、ポリオキシエチレンポリオール（例えば、グリセロール）、ポリビニルアルコール、およびそれらの混合物が挙げられる。
【０１１５】
抗体の発現
さらに別の態様では、本発明は、本明細書に記載される抗ＢＤＣＡ２抗体またはその抗原結合フラグメントをコードするポリヌクレオチド分子を提供する。ポリヌクレオチド分子は、抗体の軽鎖可変領域および／もしくは重鎖可変領域のアミノ酸配列をコードするポリヌクレオチド分子、または抗体の軽鎖および／もしくは重鎖をコードするアミノ酸配列を含むポリヌクレオチド分子を含み得る。
【０１１６】
いくつかの実施形態では、本発明の抗体をコードするポリヌクレオチド分子には、ヌクレオチド欠失、挿入、または置換により変異しているが、上記の配列で示されたＣＤＲの対応するコード領域と少なくとも約６０、７０、８０、９０、９５、または１００％の同一性をなお有するものを含む。
【０１１７】
さらなる態様において、本発明は、本明細書に記載されるようなポリヌクレオチド分子を含む発現ベクターを提供し、好ましくは、このベクターは真核生物の発現ベクターである。いくつかの実施形態では、本明細書に記載されるようなポリヌクレオチド分子は、１以上の発現ベクターに含まれる。
【０１１８】
さらなる態様において、本発明は、本明細書に記載されるようなポリヌクレオチド分子または本明細書に記載されるような発現ベクターを含む宿主細胞を提供し、好ましくは、宿主細胞は真核細胞であり、より好ましくは哺乳動物細胞である。
【０１１９】
さらに別の態様では、本発明は、本明細書に記載されるような抗ＢＤＣＡ２抗体またはその抗原結合フラグメントを作製するための方法であって、本明細書に記載される宿主細胞において、前記抗体またはその抗原結合フラグメントの発現に好適な条件下で前記抗体またはその抗原結合フラグメントを発現させること、および発現した抗体またはその抗原結合フラグメントを前記宿主細胞から回収することを含む方法を提供する。
【０１２０】
本発明は、アメリカンタイプカルチャーコレクション（ＡＴＣＣ）から入手可能ないくつかの不死化細胞株を含む、本発明の組換え抗体を発現させるための哺乳動物宿主細胞を提供する。これらには、とりわけ、チャイニーズハムスター卵巣（ＣＨＯ）細胞、ＮＳ０細胞、ＳＰ２／０細胞、ＨｅＬａ細胞、ベビーハムスター腎臓（ＢＨＫ）細胞、サル腎臓細胞（ＣＯＳ）、ヒト肝細胞癌細胞、Ａ５４９細胞、２９３Ｔ細胞および多くの他の細胞株が含まれる。哺乳動物宿主細胞としては、ヒト、マウス、ラット、イヌ、サル、ブタ、

ヤギ、ウシ、ウマ、およびハムスター細胞が挙げられる。特に好ましい細胞株は、どの細胞株が高い発現レベルを有するかを決定することによって選択される。

【０１２１】

一実施形態では、本発明は、抗ＢＤＣＡ２抗体を作製する方法を提供し、この方法は、発現ベクターが哺乳動物宿主細胞に導入された際に宿主細胞で抗体の発現を可能とする、またはより好ましくは、宿主細胞が増殖される培養培地への抗体を分泌し、それにより抗体の産生を可能とするに十分な期間、宿主細胞を培養することを含む。

【０１２２】

抗体は、標準的なタンパク質精製法を用いて培養培地から回収することができる。本明細書に記載されるように作製された抗体分子は、高速液体クロマトグラフィー、イオン交換クロマトグラフィー、ゲル電気泳動、アフィニティークロマトグラフィー、サイズ排除クロマトグラフィーなどの既知の現況技術により精製することができる。特定のタンパク質を精製するために使用される実際の条件はまた、正味電荷、疎水性、親水性などの要因にも依存する。これらは当業者には容易に明らかとなろう。本発明の抗体分子の純度は、サイズ排除クロマトグラフィー、ゲル電気泳動、高速液体クロマトグラフィーなどを含むいくつかの周知の分析方法のいずれか１つによって決定することができる。

【０１２３】

異なる細胞株によって発現された、またはトランスジェニック動物で発現された抗体は、互いに異なるグリコシル化形態を有する可能性がある。しかしながら、本明細書で提供される核酸分子によりコードされるまたは本明細書で提供されるアミノ酸配列を含む全ての抗体は、抗体のグリコシル化にはかかわらず本発明の一部である。また、特定の実施形態では、非フコシル化抗体は、ｉｎ　ｖｉｔｒｏおよびｉｎ　ｖｉｖｏにおいてそれらのフコシル化対応物よりも一般に強力な有効性を有しているので有利であり、それらの糖構造は天然ヒト血清ＩｇＧの通常の成分であるので免疫原性が起こりにくい。

【０１２４】

医薬組成物および医薬製剤

さらに別の態様では、本発明は、本明細書に記載されるような抗ＢＤＣＡ２抗体またはその抗原結合フラグメント、本明細書に記載されるポリヌクレオチド分子、本明細書に記載される発現ベクター、または本明細書に記載される宿主細胞、および薬学上許容される担体または賦形剤を含む医薬組成物を提供する。本発明により提供される抗ＢＤＣＡ２抗体またはそれらの医薬組成物は、好適な担体、賦形剤、および併用投与用製剤には他の薬剤を配合し、それにより、導入、送達、忍容性などの改善をもたらすことができることが理解されるであろう。

【０１２５】

「医薬組成物」という用語は、その中に含まれる有効成分の生物活性が有効であるような形で存在することを可能にし、製剤が投与される対象にとって許容できないほど有毒な付加的成分を含まない調製物を指す。

【０１２６】

本明細書に記載される抗ＢＤＣＡ２抗体を、好ましくは水溶液または凍結乾燥製剤の形態で含む医薬製剤は、所望の純度を有する本発明の抗ＢＤＣＡ２抗体を１以上の任意選択の薬学上許容される賦形剤と混合することにより調製することができる(Remington's Pharmaceutical Sciences, 第16版, Osol, A. Ed. (1980))。

【０１２７】

本発明の医薬組成物または製剤は、１以上のさらなる有効成分をさらに含んでもよく、その有効成分は、治療される特定の適応症に必要なものであり、好ましくは、互いに悪影響を及ぼさない相補的な活性を有する有効成分である。いくつかの実施形態では、付加的有効成分は、免疫チェックポイント阻害剤、成長阻害剤であり、適切には、意図された使用に有効な量で組み合わせて存在する。いくつかの実施形態では、本発明の医薬組成物は、抗ＢＤＣＡ２抗体をコードするポリヌクレオチド分子の組成物をさらに含む。

【０１２８】

さらなる態様において、本発明は、本明細書に記載される抗体またはその抗原結合フラグメント、本明細書に記載されるポリヌクレオチド分子、本明細書に記載される発現ベクター、本明細書に記載される宿主細胞、または本明細書に記載される医薬組成物、および１以上の付加的治療薬を含む医薬組合せを提供する。

【０１２９】

さらなる態様において、本発明は、本明細書に記載される抗体またはその抗原結合フラグメント、本明細書に記載されるポリヌクレオチド分子、本明細書に記載される発現ベクター、本明細書に記載される宿主細胞、または本明細書に記載される医薬組成物を含むキットを提供する。

【０１３０】

製薬学的用途および治療方法

本明細書で提供される抗ＢＤＣＡ２抗体または対応する免疫複合体はいずれも治療方法で使用することができる。また、「抗体」が論じられる場合、抗体を含む組成物も含まれると理解される。本発明の抗ＢＤＣＡ２抗体は、本発明の実施形態のいずれかに記載の治療または予防方法において、治療上有効な量または予防上有効な量で使用することができる。

【０１３１】

さらなる態様において、本発明は、ＢＤＣＡ２介在疾患の治療および／または予防のための薬剤の製造における本明細書に記載されるような抗体またはその抗原結合フラグメント、本明細書に記載されるような医薬組成物、または本明細書に記載されるような医薬組合せの使用を提供し、好ましくは、前記疾患は炎症性疾患であり、より好ましくは、炎症性疾患は、全身性エリテマトーデス、円板状ループス、ループス腎炎、皮膚エリテマトーデス、関節リウマチ、炎症性腸疾患、全身性強皮症（強皮症）、乾癬、Ｉ型糖尿病、皮膚筋炎および多発性筋炎から選択される。

【０１３２】

さらなる態様において、本発明は、ＢＤＣＡ２介在疾患の治療および／または予防において使用するための本明細書に記載されるような抗体またはその抗原結合フラグメント、本明細書に記載されるような医薬組成物または本明細書に記載されるような医薬組合せを提供し、好ましくは、前記疾患は炎症性疾患であり、より好ましくは、炎症性疾患は、全身性エリテマトーデス、円板状ループス、ループス腎炎、関節リウマチ、炎症性腸疾患、全身性強皮症（強皮症）、乾癬、Ｉ型糖尿病、皮膚筋炎および多発性筋炎から選択される。

【０１３３】

さらに別の態様では、本発明は、ＢＤＣＡ２介在疾患または障害を治療および／または予防する方法であって、それを必要とする対象に治療上または予防上有効な量の本明細書に記載される抗体またはその抗原結合フラグメント、本明細書に記載される医薬組成物、または本明細書に記載される医薬組合せを投与することを含む方法を提供し、好ましくは、前記疾患は炎症性疾患であり、より好ましくは、炎症性疾患は、全身性エリテマトーデス、円板状ループス、ループス腎炎、皮膚エリテマトーデス、関節リウマチ、炎症性腸疾患、全身性強皮症（強皮症）、乾癬、Ｉ型糖尿病、皮膚筋炎および多発性筋炎から選択される。

【０１３４】

いくつかの実施形態では、本発明の投与様式としては、限定されるものではないが、経口投与、静脈内投与、皮下投与、筋肉内投与、動脈内投与、関節内（例えば、関節炎の関節への）投与、吸入投与、エアロゾル送達、または局所投与などが挙げられる。

【０１３５】

「治療（treatment）」という用語は、治療される個体における疾患の自然経過を変化させようとする臨床的介入を指す。治療の望ましい効果としては、限定されるものではないが、疾患の発生または再発の予防、症状の緩和、疾患の望ましくないまたは直接的もしくは間接的な病理学的結果の軽減、疾患の進行速度の低下、病態の改善または緩和、お

よび予後の寛解または改善が挙げられる。本発明の抗体は、１以上の側面において、病態の重症度を軽減する、すなわちそれらの治療効果を発揮することができる。特定の実施形態では、以下の１以上が発現する：患者の平均寿命（生存期間）の延長、疾患の進行の遅延、医療の必要性の減少。

【０１３６】

本発明はまた、対象に対する治療上有効な量の１以上の療法（例えば、治療モダリティおよび／または他の治療薬）の併用投与も提供する。本発明の抗体は療法において単独で使用してもよいし、または他の治療薬と併用してもよい。いくつかの実施形態では、本発明の抗体は、少なくとも１つの付加的治療薬と併用投与される。

【０１３７】

診断および検出のための方法

さらに別の態様では、本発明は、本明細書に記載される抗体またはそれらの抗原結合フラグメントを用いて、サンプル中のＢＤＣＡ２の存在を検出するための方法を提供する。「検出する」という用語は、本明細書で使用される場合、定量的または定性的検出を含む。いくつかの実施形態では、サンプルは、生物学的サンプルである。特定の実施形態では、生物学的サンプルは、血液、血清、または生物学的起源の他の液体サンプルである。特定の実施形態では、生物学的サンプルは、細胞または組織を含む。特定の実施形態では、ＢＤＣＡ２は、ヒトＢＤＣＡ２またはカニクイザルＢＤＣＡ２である。この方法は、本明細書に記載される抗体もしくはその抗原結合フラグメントまたは抗体もしくはその抗原結合フラグメントを含有する検出組成物をサンプルと接触させる工程、および抗体またはその抗原結合フラグメントとＢＤＣＡ２の結合から生じる複合体または結合シグナルの有無を検出する工程を含む。検出で使用するために、本明細書に記載される抗体またはその抗原結合フラグメントは、複合体が生じたかどうかを示すために標識することができる。特定の実施形態では、この方法は、ｉｎ ｖｉｔｒｏ法またはｉｎ ｖｉｖｏ法であり得る。

【０１３８】

いくつかの実施形態では、ＢＤＣＡ２は、治療前、例えば、治療開始前または治療間隔後の特定の治療の前に検出される。一実施形態では、診断または検出方法で使用するための抗ＢＤＣＡ２抗体またはその抗原結合フラグメントが提供される。

【０１３９】

本発明の積極的な前進は以下にある：

本発明のＢＤＣＡ２標的抗体は、以下の利点のうち１以上を含む：

１．本発明の抗体は、ＣＨＯＫ１－ヒトＢＤＣＡ２細胞および／または２９３Ｆ－ｃｙｎｏＢＤＣＡ２細胞に対して、従来技術の抗ＢＤＣＡ２抗体ＢＩＩＢ０５９よりも強い活発な結合を示す；

２．本発明の抗体は、ＣｐＧ－Ａにより刺激されるヒトＰＢＭＣ細胞からのサイトカインＩＦＮαの放出に、従来技術の抗ＢＤＣＡ２抗体ＢＩＩＢ０５９よりも強い阻害を媒介する；

３．本発明の抗体は、ＢＤＣＡ２発現細胞により高い細胞内移行効率をもたらす；

４．本発明のヒト化抗体は、ヒトＢＤＣＡ２抗原に対して従来技術の抗ＢＤＣＡ２抗体ＢＩＩＢ０５９よりも高い親和性を有する。

５．マウス、ラットおよびウサギなどの非霊長類ではＢＤＣＡ２遺伝子の発現はなく、ＢＤＣＡ２抗体により治療される主な疾患（皮膚エリテマトーデスおよび全身性エリテマトーデスなど）は、霊長類における薬力学的試験モデルで成功裏に確立されていない。ｉｎ ｖｉｔｒｏおよび臨床試験によれば、抗体ＢＩＩＢ０５９は、ｉｎ ｖｉｔｒｏ実験ではＢＤＣＡ２の細胞内移行の誘導およびＰＢＭＣのＩ型インターフェロン分泌機能に対する阻害効果を示し、臨床試験研究では皮膚エリテマトーデスおよび全身性エリテマトーデスに対して症状緩和効果を示達成する(Werth VP et al. N Engl J Med 2022; 387: 321-31. Furie RA et al. N Engl J Med 2022; 387: 894-904)ことから、本発明の抗ＢＤＣＡ２抗体は、臨床的に上記疾患または障害に対してより良い治療効果を有すると推定することができる。

【０１４０】
本発明は、前記特定の実施形態の全ての組合せを含む。本発明のさらなる実施形態および適用可能性の全範囲は、以下に提供される詳細な説明から明らかになるであろう。詳細な説明および具体例は本発明の好ましい実施形態を示すものであるが、この詳細な説明から当業者には本発明の趣旨および範囲内での様々な変更および修正が明らかになるため、これらの説明および例は例示のためにのみ提供されるものであることを理解されたい。引用を含め、本明細書で引用した全ての刊行物、特許および特許出願は、目的を問わず参照によりその全体が本明細書の一部として援用される。本発明の化合物は、以下に列挙する特定の実施形態、それらを他の方法と組み合わせて形成されるもの、および当業者に周知のそれらの等価物を含む、当業者に周知の様々な合成方法によって調製することができ、好ましい実施形態には、本発明の実施例が含まれるが、これらに限定されない。
【０１４１】
本発明では、少なくとも以下の略語を用いる：
Ｈｉｓ－ｔａｇは、ヒスチジンタグ；
Ｆｃタグは、結晶性フラグメントタグ；
ＥＣＤは、細胞外ドメイン；
ＰＥＩは、ポリエチレンイミン；
ＢＳＡは、ウシ血清アルブミン；
ＰＢＳは、リン酸緩衝生理食塩水；
ＦＢＳは、ウシ胎仔血清；
ＣＦＳＥは、カルボキシフルオレセイン二酢酸スクシンイミジルエステル；
ＡＰＣは、異所性フィコシアニン；
ＮＡ－ＰＥは、フィコエリトリン標識ニュートラビジン；
ＰＥは、フィコエリトリン；
ＴＭＢは、３，３’，５，５’－テトラメチルベンジジン；
ＨＥＰＥＳ：ヒドロキシエチルピペラジンエタンスルホン酸バッファー；
ＤＴＴ：ジチオトレイトール。
【実施例】
【０１４２】
本発明を以下の実施例により説明するが、本発明を何ら限定する意図はなく、本発明は本明細書において詳細に説明され、その具体的な実施形態も開示されている。本発明の趣旨および範囲から逸脱することなく、本発明の特定の実施形態に対する様々な変更および修正がなされることは、当業者には明らかであろう。
【０１４３】
実施例１　抗ＢＤＣＡ２抗体の活性検出のための組換えタンパク質の調製
ヒトＢＤＣＡ２（ｈＢＤＣＡ２またはヒトＢＤＣＡ２）の細胞外ドメイン（Ａｓｎ４５－Ｉｌｅ２１３）をコードするｃＤＮＡ配列は、Ｇｅｎｓｃｒｉｐｔ　Ｃｏｒｐｏｒａｔｉｏｎにより、Ｇｅｎｂａｎｋ参照配列に従って合成された。増幅したフラグメントを独立に構築した、ヒト由来Ｆｃ（ｈＩｇＧ１）フラグメントを含む真核生物発現プラスミド系（ｐＣＰ－ＥＦ１ａ－ＣＭＶ－ＦｃεＲＩγ）に、従来のクローニング技術を用いてクローニングし、組換え融合タンパク質発現プラスミド　ヒトＢＤＣＡ２　Ｆｃ（ｐＣＰ－ＥＦ１ａ－ＢＤＣＡ２－ＣＭＶ－ＦｃεＲＩγ）を作出した。ヒトＢＤＣＡ２　Ｆｃ組換えタンパク質（Ｆｃ領域は、ＢＤＣＡ２細胞外ドメイン内に、Ｎ末端方向にあり、リンカーにより融合されている）は、発現のために発現細胞２９３Ｅを、精製のためにサイズ排除クロマトグラフィーカラムを用いて取得し、ポリアクリルアミドゲル電気泳動により同定した。
【０１４４】
カニクイザルＢＤＣＡ２（Ｃｙｎｏ　ＢＤＣＡ２）の細胞外ドメイン（Ａｓｎ４５－Ｉｌｅ２１２）をコードするｃＤＮＡ配列は、Ｇｅｎｓｃｒｉｐｔ　Ｃｏｒｐｏｒａｔｉｏｎにより、Ｇｅｎｂａｎｋ参照配列に従って合成され、６－Ｈｉｓ発現配列をｃＤＮＡの

Ｎ末端に付加した。このフラグメントを、独立に構築した真核生物発現プラスミド系（ｐＣＰ－ＥＦ１ａ－ＣＭＶ－ＦｃεＲＩγ）に、従来のクローニング技術を用いてクローニングし、組換え融合タンパク質発現プラスミドＣｙｎｏ　ＢＤＣＡ２　Ｈｉｓ（ｐＣＰ－ＥＦ１ａ－Ｃｙｎｏ　ＢＤＣＡ２－ＣＭＶ－ＦｃεＲＩγ）を作出した。Ｃｙｎｏ　ＢＤＣＡ２　Ｈｉｓ組換えタンパク質は、発現のために発現細胞２９３Ｅを、精製のためにサイズ排除クロマトグラフィーカラムを用いて得、その後、ポリアクリルアミドゲル電気泳動により同定した。

【０１４５】

得られた両タンパク質の濃度、総量および内毒素含量はその後の適用に適切であることが確認された。

【０１４６】

配列番号１８９に示されるヒトＢＤＣＡ２　Ｆｃのアミノ酸配列、およびヒトＢＤＣＡ２のタンパク質配列として使用されるＮＣＢＩ受託番号Ｑ８ＷＴＴ０、配列番号１９０に示されるＣｙｎｏ　ＢＤＣＡ２　Ｈｉｓのアミノ酸配列、およびＣｙｎｏ　ＢＤＣＡ２のタンパク質配列として使用されるＮＣＢＩ受託番号Ａ０Ａ２Ｋ５ＵＷＰ４－１を、本発明の抗体の活性アッセイに使用した。

【０１４７】

ＢＤＣＡ２は特異的に結合する参照抗体ＢＩＩＢ０５９配列は、特許ＵＳ９９０２７７５Ｂ２から得たものであり、重鎖配列は特許配列番号４に相当し、軽鎖配列は特許配列番号３に相当し、組換え抗体の従来の製造方法を用いて生産した。

【０１４８】

実施例２　抗ＢＤＣＡ２抗体の活性検出のためのＢＤＣＡ２発現細胞株の構築

ヒトＢＤＣＡ２をコードするｃＤＮＡ配列は、Ｇｅｎｓｃｒｉｐｔ　Ｃｏｒｐｏｒａｔｉｏｎにより、Ｇｅｎｂａｎｋ参照配列に従って合成された。増幅したフラグメントを、独立に構築したレンチウイルスパッケージングプラスミド系（ＰＬｖｘ－ＥＦ１ａ－ＣＭＶ－ｈＦｃεＲＩγ－ＩＲＥＳ－ｐｕｒｏ）に、従来のクローニング技術を用いてクローニングし、レンチウイルスパッケージングプラスミドＨｕｍａｎ　ＢＤＣＡ２（ＰＬｖｘ－ＥＦ１ａ－ｈＢＤＣＡ２－ＣＭＶ－ｈＦｃεＲＩγ－ＩＲＥＳ－ｐｕｒｏ）を作出した。

【０１４９】

カニクイザルＢＤＣＡ２をコードするｃＤＮＡ配列は、Ｇｅｎｓｃｒｉｐｔ　Ｃｏｒｐｏｒａｔｉｏｎにより、Ｇｅｎｂａｎｋ参照配列に従って合成された。増幅したフラグメントを、独立に構築したレンチウイルスパッケージングプラスミド系（ＰＬｖｘ－ＥＦ１ａ－ＣＭＶ－ｈＦｃεＲＩγ－ＩＲＥＳ－ｐｕｒｏ）に、従来のクローニング技術を用いてクローニングし、レンチウイルスパッケージングプラスミドＣｙｎｏ　ＢＤＣＡ２（ＰＬｖｘ－ＥＦ１ａ－ｃｙｎｏＢＤＣＡ２－ＣＭＶ－ｃｙｎｏＦｃεＲＩγ－ＩＲＥＳ－ｐｕｒｏ）を作出した。

【０１５０】

宿主細胞として２９３Ｔを用い、一過性法により、ＰＬｖｘ－ＥＦ１　ａ－ｈＢＤＣＡ２－ＣＭＶ－ｈＦｃεＲＩγ－ＩＲＥＳ－ｐｕｒｏプラスミドまたはＰＬｖｘ－ＥＦ１ａ－ｃｙｎｏＢＤＣＡ２－ＣＭＶ－ｃｙｎｏＦｃεＲＩγ－ＩＲＥＳ－ｐｕｒｏを２９３Ｔ細胞に移入した。トランスフェクション後４８時間および７２時間の時点でヒトＢＤＣＡ２またはＣｙｎｏ　ＢＤＣＡ２を発現するウイルスを含有する細胞培養上清を回収し、濃縮して１Ｅ８　ＥＵ／ｍＬとした。

【０１５１】

ＣＨＯＫ１細胞を予め対数増殖期まで培養し、次いで消化し、６ウェル細胞培養プレートに１Ｅ５／ウェルで播種し、一晩培養して接着させた。次に、濃縮したヒトＢＤＣＡ２ウイルスを、予め接着させた６ウェルプレートの細胞に漸増感染量（１００μ１、２００μ１）加え、感染細胞をピューロマイシン含有培地でスクリーニングし、次いで抗原発現量をフローサイトメトリーにより測定し、細胞にサブクローニング処理を行った。フロー

サイトメトリーを、参照抗体ＢＩＩＢ０５９を用いて行ったところ、結果は、対照ｈｌｇＧに比べてＢＤＣＡ２の有意な結合を示した。高い抗原発現を示すモノクローンを採取し、拡大培養して細胞株とした。

【０１５２】

２９３Ｆ細胞を予め対数増殖期まで培養し、次いで消化し、６ウェル細胞培養プレートに１Ｅ５／ウェルで播種し、一晩培養して接着させた。次に、濃縮したｃｙｎｏ ＢＤＣＡ２ウイルスを、予め接着させた６ウェルプレートの細胞に漸増感染量（１００μ１、２００μ１）加え、感染細胞をピューロマイシン含有培地でスクリーニングし、次いで抗原発現量をフローサイトメトリーにより測定し、細胞にサブクローニング処理を行った。フローサイトメトリーを、参照抗体ＢＩＩＢ０５９用いて行ったところ、結果は、対照ｈｌｇＧに比べてＢＤＣＡ２の有意な結合を示した。高い抗原発現を示すモノクローンを採取し、拡大培養して細胞株とした。

【０１５３】

実施例３　マウスハイブリドーマ細胞の調製

３．１　マウスの免疫および血清力価の検出

３．１．１　マウスの免疫のためのプロトコール

合計３群のマウス（各群５匹）を、免疫間隔を１４日あけて、２つの免疫経路で免疫した。５匹のＢａｌｂ／ｃマウス（ＳＬＡＣから購入、ＢＡＬＢ／ｃ、雌、８週）の群１、および５匹のＳＪＬマウス（ＳＬＡＣから購入、ＢＡＬＢ／ｃ、雌、８週）の群２は、生物学的（ｐＣＰ－ＥＦ１ａ－ＢＤＣＡ２－ＣＭＶ－ＦｃεＲＩγ）＋タンパク質（ヒトＢＤＣＡ２　Ｆｃ）混合プロトコールを用いて５回免疫し、最初の４回の生物学的免疫は毎回４μｇの用量とし、５回目のタンパク質免疫は２５ｇ／マウスの用量とした。５匹のＳＪＬマウス（ＳＬＡＣから購入、雌、８週）の群３は、純粋なタンパク質（ヒトＢＤＣＡ２　Ｆｃ）で合計３回免疫し、１回目は５０ｇ／回、２回目は２５ｇ／回とした。表１参照。

【０１５４】

【表１】

表１ マウスの免疫のプロトコール

免疫源	動物の群分け	系統	経路	用量(μg/匹)	アジュバント
プラスミド＋タンパク質混合物	G1 (9731,9732,9733,9734,9735)	Balb/c	遺伝子銃	4/4/4/4；25	GM-CSFおよびFLT3L
	G2 (9736,9737,9738,9739,9740)	SJL			
BDCA2-Fcタンパク質	G3 (9946,9947,9948,9949,9950)	SJL	I.P.	50/25/25	CFA/IFA /IFA

【０１５５】

３．１．２　マウスの免疫力価の検出

免疫マウスの血清サンプルを複数の時点で採取し、ＥＬＩＳＡおよびＦＡＣＳアッセイをそれぞれ実施した。複数のアッセイの結果に基づいて（最後のマウス血清アッセイ（ＴＢ）を主要参照因子とし、詳細な結果は示していない）、合計４匹のマウスを選択し、２匹の融合を行った：融合＃Ｆ０２２３はＧ１群のＢａｌｂ／ｃ＃９７３５とＧ２群のＳＪＬ＃９７４０の蛍光強度が最も高い２匹のマウスを選び、融合＃Ｆ０５１１はＧ３群のＳＪＬ＃９９４７とＳＪＬ＃９９４８の蛍光強度が最も高い２匹のマウスを選んだ。

【０１５６】

３．２　細胞の融合

ブースト最終投与の４日後にマウスを犠死させた後、脾細胞を採取し、生理食塩水で粉砕した後、リンパ球濃縮懸濁液を採取し、通常の電気導入によりマウス骨髄腫細胞Ｓｐ２／０と混合して、高効率電気融合を用いた細胞融合を行った。

【０１５７】
融合細胞を、ＨＴ（ヒポキサンチン、チミジン）を含有するＤＭＥＭ培地に希釈し、９６ウェルプレートに一定の割合で播種し、５％CO_2、３７℃のインキュベーターで一晩培養し、２４時間後に２＊ＨＡＴ（ヒポキサンチン、メトトレキサートおよびチミジン含有）を含有するＤＭＥＭ培地を加え、融合に成功した細胞（ハイブリドーマ細胞）をスクリーニングした。
【０１５８】
ＤＭＥＭ完全培地の配合は、１５％ＦＢＳ（ウシ胎仔血清）＋１：５０　Ｌ－グルタミン＋１００Ｕ／ｍＬペニシリンおよびストレプトマイシン＋１：１００　ＯＰＩ（オキサロ酢酸、ピルビン酸、およびインスリン）であり、インキュベーターの条件は、８％CO_2、３７℃であった。
【０１５９】
実施例４　マウスハイブリドーマ細胞のスクリーニングおよび抗ＢＤＣＡ２マウス抗体の精製
融合細胞を約１０日間培養しスクリーニングした後、上清中のＢＤＣＡ２抗体の発現をＡｃｕｍｅｎレーザー細胞検出器で検出した。検出のための陽性細胞はＣＨＯＫ１－ヒトＢＤＣＡ２であり、陰性細胞はＣＨＯＫ１－ブランクであり、陽性対照抗体は参照抗体ＢＩＩＢ０５９であった。Ａｃｕｍｅｎの結果に従い、陽性クローンを２４ウェルプレートに採取して拡大培養を行い、３日間培養した後に２４ウェルプレートでの拡大培養の上清を以下の方法を用いて回収した：１）ＣＨＯＫ１－ヒトＢＤＣＡ２細胞および２９３Ｆ－ｃｙｎｏＢＤＣＡ２細胞に対する結合活性に関するＦＡＣＳ、２）ヒトＢＤＣＡ２　Ｆｃタンパク質およびｃｙｎｏＢＤＣＡ２　Ｈｉｓタンパク質に対する結合活性に関するＥＬＩＳＡ、３）ＣｐＧ－ＡがＰＢＭＣによるサイトカインＩＦＮαの産生を刺激する実験における阻害活性の検出（ＩＦＮαの産生を阻害する）。
【０１６０】
Ｆ０２２３の融合から得られたポリクローナルハイブリドーマ細胞で１８９個のハイブリドーマ細胞をＡｃｕｍｅｎ結合アッセイによりスクリーニングし、分泌された抗体はｈＢＤＣＡ２に特異的に結合することができた。さらにスケールアップして、結合に関して陽性であったこれら１８９のハイブリドーマ細胞を２４ウェルプレートで再スクリーニングしたところ、２８のハイブリドーマ細胞により発現された抗体はＥＬＩＳＡアッセイでｈＢＤＣＡ２およびｃｙｎｏ　ＢＤＣＡ２と結合することができ、ＦＡＣＳで細胞表面に発現したｈＢＤＣＡ２およびｃｙｎｏ　ＢＤＣＡ２することができ、ＩＦＮαブロッキング実験ではＰＢＭＣ細胞からのＩＦＮα分泌のＣｐＧ誘導を阻害できることが示された。その後、２８個のハイブリドーマ細胞をサブクローニングした。ｍＡｂ００１～ｍＡｂ０１８とナンバリングされた１８のブロッキングモノクローナル細胞株をサブクローンにおいてスクリーニングした。
【０１６１】
Ｆ０５１１の融合から得られたポリクローナルハイブリドーマ細胞で１６８個のハイブリドーマ細胞をＡｃｕｍｅｎ結合アッセイによりスクリーニングし、分泌された抗体はｈＢＤＣＡ２に特異的に結合することができた。さらにスケールアップして、結合に関して陽性であったこれら１６８のハイブリドーマ細胞を２４ウェルプレートで再スクリーニングしたところ、３５のハイブリドーマ細胞により発現された抗体はＥＬＩＳＡアッセイでｈＢＤＣＡ２およびｃｙｎｏ　ＢＤＣＡ２と結合することができ、ＦＡＣＳで細胞表面に発現したｈＢＤＣＡ２およびｃｙｎｏ　ＢＤＣＡ２と結合することができ、ＩＦＮαブロッキング実験ではＰＢＭＣ細胞からのＩＦＮα分泌のＣｐＧ誘導を阻害できることが示された。その後、３５個のハイブリドーマ細胞をサブクローニングした。ｍＡｂ０１９～ｍＡｂ０３４とナンバリングされた１６のブロッキングモノクローナル細胞株がサブクローンにおいてスクリーニングされた。
【０１６２】
２回の融合とスクリーニングを経て、最終的に合計３４の陽性モノクローンが得られた

。分泌された抗体を精製し、濃度、品質、純度、および内毒素含量がその後の実験の要件を満たしていることが分析された。

【０１６３】

実施例５　抗ＢＤＣＡ２マウス抗体の性能の決定

得られたマウス抗体は全て、ＥＬＩＳＡによって測定した場合、EC_{50}＜０．３ｎＭで、ヒトＢＤＣＡ２　Ｆｃタンパク質に対して良好な結合活性を持っていた。マウス抗体はｃｙｎｏＢＤＣＡ２　Ｈｉｓタンパク質に対して良好な結合を示し、ほとんどの抗体が、ＥＬＩＳＡによって測定した場合、EC_{50}＜０．５ｎＭを示した。

【０１６４】

全てのマウス抗体が、対照抗体ＢＩＩＢ０５９と同等または優れたEC_{50}でＣＨＯＫ１－ヒトＢＤＣＡ２細胞に結合した（図１ａ～１ｅの結果を参照）。ほとんどのマウス抗体が、対照抗体ＢＩＩＢ０５９と同等または優れたEC_{50}で２９３Ｆ－ｃｙｎｏＢＤＣＡ２細胞に結合した（図２ａ～２ｅ）の結果を参照）。

【０１６５】

ＣＨＯＫ１－ヒトＢＤＣＡ２細胞および２９３Ｆ－ｃｙｎｏＢＤＣＡ２細胞に結合する３２の抗体を、ＣｐＧ－Ａ刺激ＰＢＭＣ実験でサイトカインＩＦＮα放出を阻害する能力に関して試験した。これらの抗体は全て、ある程度の阻害活性を持っていた。これらのうち、ｍＡｂ００５、ｍＡｂ０１９、ｍＡｂ０２０、ｍＡｂ０２１、ｍＡｂ０２２、ｍＡｂ０２４、ｍＡｂ０２７、ｍＡｂ０３０、ｍＡｂ０３３はそれぞれ、サイトカイン放出阻害のIC_{50}が０．０８６６７ｎＭ、０．００３３２３ｎＭ、０．００６１４６ｎＭ、０．００４０４７ｎＭ、０．００６２３２ｎＭ、０．００２７４４ｎＭ、０．０７００４ｎＭ、０．００４７６２ｎＭ、および０．００４０８３ｎＭであった。

【０１６６】

上記の試験手順を以下に示すが、ｍＡｂ００１～ｍＡｂ０３４は、本発明のマウス抗体であり、ＢＩＩＢ０５９は、先に記載したような参照抗体であり、ｈＩｇＧ１はヒトＩｇＧ１陰性対照であり、ｍＩｇＧ１ｊはマウスＩｇＧ１陰性対照である。

【０１６７】

５．１　ＥＬＩＳＡによるタンパク質に対するマウス抗体の結合活性の検出

ヒトＢＤＣＡ２　Ｆｃタンパク質またはｃｙｎｏＢＤＣＡ２　Ｈｉｓタンパク質をＰＢＳで１μｇ／ｍＬに希釈し、ＥＬＩＳＡマイクロプレートに１００μＬ／ウェルで加え、４℃で一晩インキュベートした。プレートをＥＬＩＳＡブロッキング溶液（１％ＢＳＡを含むＰＢＳリン酸バッファー、ｐＨ７．４、パーセンテージは質量パーセンテージを表す）で、３７℃で２時間ブロッキングした。抗体の１０倍段階希釈液を８濃度（０．０００１ｎＭ～１００ｎＭ、０点対照を含む）で、合計１００μＬ／ウェルで添加した。プレートを３７℃で１時間インキュベートし、次いで３回洗浄し、抗マウスＩｇＧ（Ｆａｂ特異的）－ＨＲＰ（Ｓｉｇｍａ、Ａ３６８２；１：５０００希釈）二次抗体を１００μＬ／ウェルで加えた後、３７℃で１時間インキュベートした。プレートを３回洗浄し、ＴＭＢ発色液（ＥＬ０００９、Ｈｕｚｈｏｕ　Ｙｉｎｇ　Ｃｈｕａｎｇ　Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ）を１００μＬ／ウェルで加え、３７℃で１０分間インキュベートした後、５０μＬの１Ｎ塩酸を加えて発色反応を停止させた。ＥＬＩＳＡプレートリーダーでＯＤ４５０ｎｍ値を読み取り、ＧｒａｐｈＰａｄ　Ｐｒｉｓｍ６で曲線を当てはめ、EC_{50}値を算出した。

【０１６８】

５．２　ＦＡＣＳ法による細胞に対するマウス抗体の結合活性の検出

対数増殖期まで培養したＣＨＯＫ１－ヒトＢＤＣＡ２細胞および２９３Ｆ－ｃｙｎｏＢＤＣＡ２細胞をＴｒｙｐＬＥでトリプシン処理した。細胞を回復させ、ＦＡＣＳバッファー（ＰＢＳ＋２％ＦＢＳ）で2×10^{6}／ｍＬとなるように再懸濁させた。細胞を３７９９細胞プレート（Ｃｏｒｎｉｎｇ）に１００μＬ／ウェルで加え、３００ｇで遠心分離した後に上清を廃棄した。抗体をＦＡＣＳバッファー（同上）で段階希釈し、希釈抗体を遠心分離した細胞に加え、細胞を再懸濁させた。細胞を４℃で１時間インキュベートした。

インキュベートした細胞を３００ｇで５分間遠心分離し、ＦＡＣＳバッファーで２回洗浄した。１００μＬのロバ抗マウスＩｇＧ（Ｈ＋Ｌ）Ｈｉｇｈｌｙ Ｃｒｏｓｓ－Ａｄｓｏｒｂｅｄ Ｓｅｃｏｎｄａｒｙ Ａｎｔｉｂｏｄｙ－Ａｌｅｘａ Ｆｌｕｏｒ ４８８（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ、Ａ２１２０２；１：１０００）二次抗体を細胞に加え、４℃で１時間インキュベートした後にＦＡＣＳバッファーで２回洗浄し、ＰＢＳで再懸濁させ、ＦＡＣＳ（ＢＤ ＦＡＣＳ ＣａｎｔｏＴＭ ＩＩ）装置で分析した。ＧｒａｐｈＰａｄ Ｐｒｉｓｍ６で曲線を当てはめ、EC_{50}値を算出した。

【０１６９】

５．３． ヒトＰＢＭＣ細胞からのサイトカインＩＦＮαの、ＣｐＧ－Ａにより刺激される放出を阻害するマウス抗体の能力

１）低温保存されたヒトＰＢＭＣ細胞を回復させ、一晩、完全培地（１６４０＋１０％ＦＢＳ＋ｌ×ＮＥＡＡ＋ｌ×Ｌ－グルタミン）で１８時間インキュベートした。翌日、ＰＢＭＣ細胞を回収し、６００ｇで８分間遠心分離し、上清を廃棄した。細胞を培地（１６４０＋１０％ＦＢＳ）で$8\times l0^{6}$／ｍＬとなるように再懸濁させ、３７９９細胞培養プレートに１００μＬ／ウェルで加えた。供試抗体を培地（１６４０＋１０％ＦＢＳ）で、１０レベル（終濃度０．０００１ｎＭ～１０ｎＭ）で段階希釈し、希釈した抗体をＰＢＭＣに５０μＬ／ウェルで加えた。細胞を再懸濁させ、３７℃で６時間インキュベートした。５０μＬの培地（１６４０＋１０％ＦＢＳ）で希釈した２μＭ ＣｐＧ－Ａ（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ、ｔｌｒｌ－２２１６－５）を各ウェルに加え、混合し、３７℃で２０時間インキュベートした。３日目に、細胞培養プレートを４００ｇで５分間遠心分離し、細胞培養上清を回収し、上清中のサイトカインＩＦＮαをアッセイした。

【０１７０】

２）ＥＬＩＳＡによるサイトカインＩＦＮαの検出

抗体ＭＴ１／３／５（Ｍａｂｔｅｃｈ、３４２５－１Ｈ－２０）をＰＢＳで４μｇ／ｍＬに希釈し、ＣＯＲＮＩＮＧ ＥＬＩＳＡプレートに１００μＬ／ウェルに加え、４℃で一晩インキュベートしてプレートをコーティングした。次に、プレートのコーティングに使用した抗体を廃棄し、ブロッキング溶液（ＰＢＳ＋１％ＢＳＡ）をプレートに３００μＬ／ウェルで加え、４℃で一晩インキュベートした。供試上清をブロッキング溶液で適当な濃度（場合に応じて１：３～１：７から選択）に希釈し、コーティングされたＥＬＩＳＡプレートに１００μＬ／ウェルで加えた。検出のためのＩＦＮα標品をブロッキング溶液で２倍段階希釈し（最高濃度を１０００ｐｇ／ｍＬとし、８濃度点、最終点を０とした）、コーティングされたＥＬＩＳＡプレートに１００μＬ／ウェルで加えた。ＥＬＩＳＡプレートを３７℃で、１時間インキュベーター内でインキュベートした。プレートを３回洗浄し、検出抗体ＭＴ２／４／６（１：１０００）を１００μＬ／ウェルで加え、インキュベーター内で、３７℃で１時間インキュベートした。プレートを３回洗浄し、二次抗体ＳＡ－ＨＲＰ（１：１０００）を１００μＬ／ウェルで加えた後、インキュベーター内で、３７℃で０．５時間インキュベートした。プレートを３回洗浄し、ＴＭＢ発色溶液を１００μＬ／ウェルで加え、反応を適当な時点で１Ｍ ＨＣ１を５０μＬ／ウェルで加えることにより停止させた。ＯＤ４５０ｎｍ読み取り値をＥＬＩＳＡプレートリーダーで測定し、次いで阻害率を算出し、ＧｒａｐｈＰａｄ Ｐｒｉｓｍ６で曲線を当てはめ、EC_{50}値を算出した。

【０１７１】

実施例６ 抗ＢＤＣＡ２マウスハイブリドーマ（モノクローナル抗体）の可変領域配列の決定（Ｋａｂａｔの表現に従う）

１６のハイブリドーマモノクローンをＶＨ／ＶＬ配列決定のために、マウス抗体のタンパク質および細胞レベルでの抗原と結合する能力、およびＰＢＭＣ系におけるＣｐＧ－Ａ刺激により引き起こされるサイトカインＩＦＮα放出を阻害する抗体の能力の結果に基づいて選択した。

【０１７２】

抗ＢＤＣＡ２マウス抗体の可変領域に相当するＤＮＡコード配列を、縮重プライマーの

ＰＣＲに基づく方法で決定した。細胞を１０００ｒｐｍでの遠心分離により回収し、全ＲＮＡをＴｒｉｚｏｌにより抽出した。全ＲＮＡを鋳型として第１鎖ｃＤＮＡを合成し、これを鋳型としてｐＣＲにより対応する可変領域ＤＮＡコード配列を増幅した。増幅反応に使用されるプライマー配列は、抗体の可変領域の第１のフレームワーク領域および定常領域と相補的である(Larrick, J.W., et al., 1990, Scand. J. Immunol., 32, 121-128 and Coloma, J. J. et al., (1991) BioTechniques, 11, 152-156)。ｃＤＮＡ　１μ１、１０×ＰＣＲバッファー５μ１、上流および下流プライマー各１μ１（２５ｐｍｏｌ）、ｄＮＴＰ　１μ１、２５ｍｍｏｌ　ＰＬ　$MgCl_2$　１μ１、H_2O　３９μ１を５０μＩの反応系にそれぞれ加え、９５℃で１０分間予め変性させ、Ｔａｑ酵素１μ１を加え、温度サイクルを開始してＰＣＲ増幅を行った。反応条件は、９４℃で変性１、５８℃でアニーリング１分、７２℃で伸張１５秒を合計３２サイクル、次いで７２℃でインキュベーション１０分とした。ＰＣＲ産物を回収し、精製した。増幅産物のシークエンシングを行って抗ＢＤＣＡ２マウス抗体の重鎖可変領域および軽鎖可変領域のアミノ酸配列を得た。

【０１７３】

生殖細胞系およびおよび再配列Ｉｇ可変領域配列データベースにおいてコンセンサス配列をＮＣＢＩ　Ｉｇ－Ｂｌａｓｔ(http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/igblast/)で検索した。相補性決定領域（ＣＤＲ）のアミノ酸配列は、配列アノテーションならびにＫａｂａｔ(Wu, T.T and Kabat, E.A. 1970 J. Exp. Med., 132: 211-250)およびＩＭＧＴシステム(Lefranc M.-P. et al., 1999 Nucleic Acids Research, 27, 209-212)に基づくインターネット配列分析（http://www.imgt.org/IMGT_vquest/vquestおよびhttp://www.ncbi.nlm.nih.gov/igblast/）により同定した。

【０１７４】

選択された抗ＢＤＣＡ２マウス抗体の軽鎖および重鎖可変領域ならびにＣＤＲのアミノ酸配列を表２に示す。複数配列のアラインメントと進化ツリー分類を行い、結果に従って、１６のモノクローナル抗体配列の重鎖可変領域ＶＨは、主として以下の５つの主要なクラスに分類された：１）ｍＡｂ０２０、０２２、０２６；２）ｍＡｂ０２１、０２７、０２８、０３０、０３２、０３４；３）ｍＡｂ０１９、０２４、０３３；４）ｍＡｂ００１、００２；５）ｍＡｂ００５、０１６、ここで、ｍＡｂ０２８およびｍＡｂ０３０の重鎖可変領域は２個のアミノ酸だけで異なり、ｍＡｂ０２８およびｍＡｂ０３２は１個のアミノ酸だけで異なる。軽鎖可変領域ＶＬは、３つの主要なクラスに分類することができた：１）ｍＡｂ０１９；２）ｍＡｂ０２１、０２７、０２８、０３０、０３２、０３４；３）他の抗体。

【０１７５】

【表２】

表 2 抗 BDCA2 マウス抗体の CDR および可変領域のアミノ酸配列(KABAT プロトコール)

マウス抗体	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCDR1	LCDR2	LCDR3	VH	VL
mAb001	配列番号1	配列番号2	配列番号3	配列番号4	配列番号5	配列番号6	配列番号57	配列番号58
mAb002	配列番号7	配列番号2	配列番号8	配列番号9	配列番号10	配列番号6	配列番号59	配列番号60
mAb005	配列番号11	配列番号12	配列番号13	配列番号14	配列番号15	配列番号16	配列番号61	配列番号62
mAb016	配列番号17	配列番号12	配列番号13	配列番号18	配列番号15	配列番号16	配列番号63	配列番号64
mAb019	配列番号19	配列番号20	配列番号21	配列番号22	配列番号23	配列番号24	配列番号65	配列番号66
mAb020	配列番号25	配列番号26	配列番号27	配列番号28	配列番号29	配列番号30	配列番号67	配列番号68
mAb021	配列番号31	配列番号32	配列番号33	配列番号34	配列番号35	配列番号36	配列番号69	配列番号70
mAb022	配列番号25	配列番号26	配列番号37	配列番号28	配列番号29	配列番号30	配列番号71	配列番号68
mAb024	配列番号38	配列番号39	配列番号40	配列番号41	配列番号15	配列番号42	配列番号72	配列番号73
mAb026	配列番号31	配列番号43	配列番号27	配列番号44	配列番号45	配列番号30	配列番号74	配列番号75
mAb027	配列番号31	配列番号46	配列番号47	配列番号34	配列番号48	配列番号49	配列番号76	配列番号77
mAb028	配列番号25	配列番号50	配列番号47	配列番号34	配列番号51	配列番号49	配列番号78	配列番号79
mAb030	配列番号31	配列番号50	配列番号47	配列番号34	配列番号51	配列番号49	配列番号80	配列番号79
mAb032	配列番号25	配列番号50	配列番号47	配列番号34	配列番号51	配列番号49	配列番号81	配列番号79
mAb033	配列番号52	配列番号39	配列番号53	配列番号54	配列番号55	配列番号42	配列番号82	配列番号83
mAb034	配列番号25	配列番号56	配列番号47	配列番号34	配列番号35	配列番号49	配列番号84	配列番号85

【０１７６】

実施例７　抗ＢＤＣＡ２キメラ抗体の構築

ヒトーマウスキメラ抗体構築のために、配列検出の結果に従って合計１２のモノクローナル抗体配列を選択し、プラスミド構築の際にヒト定常領域配列としてｈｌｇＧ１　Ｆｃフラグメントの配列を選択した。抗ＢＤＣＡ２マウス抗体の重鎖および軽鎖可変領域のコード配列はＧｅｎｓｃｒｉｐｔ　Ｃｏｒｐｏｒａｔｉｏｎにより合成された。抗体の発現は、ｅｘｐｉ　２９３Ｆを宿主細胞として行った。得られたキメラ抗体はそれぞれ、ｍａｂ００１ｃ、ｍａｂ００２ｃ、ｍａｂ００５ｃ、ｍａｂ０１６ｃ、ｍａｂ０１９ｃ、ｍａｂ０２０ｃ、ｍａｂ０２１ｃ、ｍａｂ０２２ｃ、ｍａｂ０２４ｃ、ｍａｂ０２７ｃ、ｍａ

ｂ０３０ｃ、およびｍａｂ０３３ｃであり、発現したキメラ抗体は個々に特性評価を行った。

【０１７７】

実施例８　キメラ抗体のスクリーニング

８．１．　ＥＬＩＳＡ法によるタンパク質に対する抗ＢＤＣＡ２キメラ抗体の結合活性の検出

ヒトＢＤＣＡ２　Ｆｃタンパク質またはｃｙｎｏＢＤＣＡ２　Ｈｉｓタンパク質をＰＢＳで１μｇ／ｍＬに希釈し、ＥＬＩＳＡマイクロプレートに１００μＬ／ウェルで加え、４℃で一晩インキュベートした。ブロッキングは、ＥＬＩＳＡブロッキング溶液（１％ＢＳＡを含むＰＢＳリン酸バッファー、ｐＨ７．４、パーセンテージは質量パーセンテージを表す）で、３７℃で２時間行った。抗体の１０倍段階希釈液を８濃度（０．０００１ｎＭ～１００ｎＭ、０点対照を含む）で添加した。プレートを３７℃で１時間、１００μＬ／ウェルでインキュベートした。プレートを３回洗浄し、抗ヒトＩｇＧ（Ｆａｂ特異的）－ＨＲＰ（Ｓｉｇｍａ、Ａ０２９３；１：５０００希釈）二次抗体を１００μＬ／ウェルで加え、３７℃でインキュベートした。プレートを３回洗浄し、ＴＭＢ発色液（ＥＬ０００９、Ｈｕｚｈｏｕ　Ｙｉｎｇ　Ｃｈｕａｎｇ　Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ）を１００μＬ／ウェルで加え、３７℃で１０分間インキュベートした後、５０μＬの１Ｎ塩酸を加えて発色反応を停止させた。ＥＬＩＳＡプレートリーダーでＯＤ４５０ｎｍ値を読み取り、ＧｒａｐｈＰａｄ　Ｐｒｉｓｍ６で曲線を当てはめ、EC_{50}値を算出した。

【０１７８】

結果は以下のとおりである：試験した抗体は、ヒトＢＤＣＡ２－ＦｃタンパクとｃｙｎｏＢＤＣＡ２　Ｈｉｓタンパク質の両方に結合した。ヒトＢＤＣＡ２－Ｆｃタンパク質への結合のEC_{50}は０．１～０．２ｎＭであった。ほとんどの抗体は、０．６ｎＭ未満のEC_{50}値で、ｃｙｎｏＢＤＣＡ２タンパク質に結合した。

【０１７９】

８．２．　ＦＡＣＳ法による細胞に対するキメラ抗体の結合活性の検出

対数増殖期まで培養したＣＨＯＫ１－ヒトＢＤＣＡ２細胞および２９３Ｆ－ｃｙｎｏＢＤＣＡ２細胞をＴｒｙｐＬＥｄでトリプシン処理した。細胞を回復させ、ＦＡＣＳバッファー（ＰＢＳ＋２％ＦＢＳ）で2×10^{6}／ｍＬとなるように再懸濁させた。細胞を３７９９細胞プレート（Ｃｏｒｎｉｎｇ）に１００μＬ／ウェルで加え、３００ｇで遠心分離した後に上清を廃棄した。抗体をＦＡＣＳバッファー（同上）で段階希釈し、希釈抗体を遠心分離した細胞に加え、細胞を再懸濁させた。細胞を４℃で１時間インキュベートした。インキュベートした細胞を３００ｇで５分間遠心分離し、ＦＡＣＳバッファーで２回洗浄した。１００μＬのロバ抗ヒトＩｇＧ（Ｈ＋Ｌ）Ｃｒｏｓｓ－Ａｄｓｏｒｂｅｄ　Ｓｅｃｏｎｄａｒｙ　Ａｎｔｉｂｏｄｙ－Ａｌｅｘａ　Ｆｌｕｏｒ　４８８（Ｓｉｇｍａ、Ａ１１０１３；１：１０００）二次抗体を細胞に加え、４℃で１時間インキュベートした後にＦＡＣＳバッファーで２回洗浄し、ＰＢＳで再懸濁させ、ＦＡＣＳ（ＢＤ　ＦＡＣＳ　ＣａｎｔｏＴＭ　ＩＩ）装置で分析し、ＧｒａｐｈＰａｄ　Ｐｒｉｓｍ６で曲線を当てはめ、EC_{50}値を算出した。

【０１８０】

図３（３ａ～３ｃ）に示されるように、全ての供試キメラ抗体がＣＨＯＫ１－ヒトＢＤＣＡ２細胞と対照抗体ＢＩＩＢ０５９と同等または優れたEC_{50}で結合した。同時に、全ての供試キメラ抗体が２９３Ｆ－ｃｙｎｏＢＤＣＡ２細胞と、対照抗体ＢＩＩＢ０５９と同等または優れたおよそ０．３～２ｎＭのEC_{50}で結合した。

【０１８１】

８．３．　ＣｐＧ－ＡがヒトＰＢＭＣ細胞からのサイトカインＩＦＮαの放出を刺激するのを阻害するキメラ抗体の能力の検出

低温保存したヒトＰＢＭＣ細胞を回復させ、完全培地（１６４０＋１０％ＦＢＳ＋ｌ×ＮＥＡＡ＋ｌ×Ｌ－グルタミン）で一晩、１８時間インキュベートした。翌日、ＰＢＭＣ細胞を回収し、６００ｇで８分間遠心分離し、上清を廃棄した。細胞を培地（１６４０＋

１０％ＦＢＳ）で８×ｌ０^{6}／ｍＬになるように再懸濁させ、３７９９細胞培養プレートに１００μＬ／ウェルで加えた。供試抗体を培地（１６４０＋１０％ＦＢＳ）で１０系統に段階希釈（終濃度０．０００１ｎＭ～１０ｎＭ）し、希釈した抗体をＰＢＭＣに５０μＬ／ウェルで加えた。細胞を再懸濁させ、３７℃で６時間インキュベートした。５０μＬの培地（１６４０＋１０％ＦＢＳ）で希釈した２μＭ　ＣｐＧ－Ａ（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ、ｔｌｒｌ－２２１６－５）を各ウェルに加え、十分混合し、３７℃で２０時間インキュベーションを続けた。細胞培養プレートを３日目に４００ｇで５分間遠心分離し、細胞培養上清を回収し、上清中のサイトカインＩＦＮαをアッセイした。

【０１８２】

抗体ＭＴ１／３／５（Ｍａｂｔｅｃｈ、３４２５－１Ｈ－２０）をＰＢＳで４μｇ／ｍＬに希釈し、ＣＯＲＮＩＮＧ　ＥＬＩＳＡプレートに１００μＬ／ウェルで加え、コーティングしたプレートを４℃で一晩インキュベートした。次に、抗体でコーティングされたプレートに、ブロッキング溶液（ＰＢＳ＋１％ＢＳＡ）を３００μＬ／ウェルで加え、４℃で一晩インキュベートした。供試上清をブロッキング溶液で適当な濃度（一般に１：３～１：７の範囲）に希釈し、コーティングされたＥＬＩＳＡプレートに１００μＬ／ウェルで加えた。ＩＦＮα検出標品をブロッキング溶液で２倍段階希釈し（最高濃度を１０００ｐｇ／ｍＬとし、８濃度点、最終点を０とした）、コーティングされたＥＬＩＳＡプレートに１００μＬ／ウェルで加えた。ＥＬＩＳＡプレートをインキュベーター内で、３７℃で１時間インキュベートした。プレートを３回洗浄し、検出抗体ＭＴ２／４／６（１：１０００）を１００μＬ／ウェルで加え、インキュベーター内で、３７℃で１時間インキュベートした。プレートを３回洗浄し、二次抗体ＳＡ－ＨＲＰ（１：１０００）を１００μＬ／ウェルで加え、インキュベーター内で、３７℃で０．５時間インキュベートした。プレートを３回洗浄し、ＴＭＢ発色溶液を１００μＬ／ウェルで加え、適当な時点で１ＭＨＣ１を５０μＬ／ウェルで加えて反応を停止させた。ＯＤ４５０ｎｍ読み取り値をＥＬＩＳＡプレートリーダーで読み取り、阻害率を算出し、ＧｒａｐｈＰａｄ　Ｐｒｉｓｍ６で曲線を当てはめ、ＥＣ$_{50}$値を算出した。

【０１８３】

供試した１２のキメラ抗体は全て、ＰＢＭＣからのＣｐＧ－Ａ刺激サイトカイン放出の実験で、サイトカインＩＦＮαの分泌を阻害することができ、ｍａｂ００５ｃ、ｍａｂ０１９ｃ、ｍａｂ０２０ｃ、ｍａｂ０２１ｃ、ｍａｂ０２２ｃ、ｍａｂ０２４ｃ、ｍａｂ０２７ｃ、ｍａｂ０３０ｃ、およびｍａｂ０３３ｃのＩＣ$_{50}$はそれぞれ０．００８３５９ｎＭ、０．０１４９３ｎＭ、０．０１８５３ｎＭ、０．０１２６８ｎＭ、０．０３２３９ｎＭ、０．０１６７７ｎＭ、０．００８９７６ｎＭ、０．０１６４５ｎＭ、および０．００８３３１ｎＭであった。

【０１８４】

８．４．　キメラ抗体の細胞内移行能の検出

対数増殖期まで培養したＣＨＯＫ１－ヒトＢＤＣＡ２細胞をＴｒｙｐＬＥでトリプシン処理した。細胞を回復させ、ＦＡＣＳバッファー（ＰＢＳ＋２％ＦＢＳ）で２×１０^{6}／ｍＬとなるように再懸濁させた。細胞を３７９９細胞プレートに１００μＬ／ウェルで加え、３００ｇで遠心分離した後に上清を廃棄し、細胞をアイスボックスに入れて冷却した。抗体をＦＡＣＳバッファーで段階希釈し（３濃度を設定：１００ｎＭ、１０ｎＭ、１ｎＭ；各３群：０時点対照；４℃、１時間；３７℃、１時間）、次いでアイスボックスに入れて１５分間冷却し、抗体を１５分後に遠心分離した細胞に加え、細胞を再懸濁させ、４℃で４０分間インキュベートした。インキュベートした細胞を３００ｇで５分間遠心分離し、ＦＡＣＳバッファーで２回洗浄した。０時点群の細胞を室温で１０分間、パラホルムアルデヒドで固定し、ＦＡＣＳバッファーで２回洗浄し、さらに２群の細胞を１００μＬのＦＡＣＳバッファーで再懸濁させ、４℃および３７℃でそれぞれ１時間インキュベートした。４℃で１時間および３７℃で１時間の群の細胞を室温で１０分間、パラホルムアルデヒドで固定し、ＦＡＣＳバッファーで２回洗浄した。３群の細胞に同時に１００μＬの二次抗体ヤギ抗ヒトＩｇＧ（Ｈ＋Ｌ）Ｃｒｏｓｓ－Ａｄｓｏｒｂｅｄ　Ｓｅｃｏｎｄａｒ

ｙ　Ａｎｔｉｂｉｄｙ－Ａｌｅｘａ　Ｆｌｕｏｒ　４８８（Ｓｉｇｍａ、Ａ１１０１３；１：１０００）を加え、４℃で１時間インキュベートした。細胞をＦＡＣＳバッファーで２回洗浄し、次いでＰＢＳで再懸濁させ、ＦＡＣＳ装置で分析し、表面シグナルのパーセンテージを算出した。

【０１８５】

キメラ抗体の細胞内移行は１００ｎＭ、１０ｎＭ、および１ｎＭ濃度で起こり、１２のキメラ抗体が媒介する細胞内移行能は、陽性対照抗体ＢＩＩＢ０５９と大差なく、やや良好であった。３７℃で１時間、１００ｎＭでの細胞内移行時、細胞表面シグナル値は５０％～６０％であった。

【０１８６】

実施例９　抗体の可変領域のヒト化

抗体の可変領域のヒト化のため、まず、マウス抗体のｃＤＮＡ配列と相同なヒト生殖細胞系ＩｇＧ遺伝子をＮＣＢＩ(http://www.ncbi.nlm.nih.gov/igblast/)ウェブサイトでヒトの免疫グロブリン遺伝子データベースで検索し、次にそれらの正確な境界をＫａｂａｔナンバリングシステムまたはＩＭＧＴナンバリングシステムにより特定した。特に、マウス抗体と高い相同性を有するヒトＩＧＨＶをヒト化鋳型として選択し、ＣＤＲグラフトにより抗体の可変領域のヒト化を行った。

【０１８７】

ｍＡｂ００５およびｍＡｂ０３３を、上記で得られたマウス抗体の配列からのヒト化のために選択した。ヒト化プロセスの工程は次の通りであった：ａ、マウス抗体の遺伝子配列をヒト生殖細胞系抗体の遺伝子配列とアラインして高い相同性を有する配列を見出し；ｂ、ＨＬＡ－ＤＲ親和性を調べるための分析を行って、親和性の低いヒト生殖細胞系フレームワーク配列を選択し；ｃ．分子ドッキングを適用し、可変領域のフレームワークアミノ酸配列とその周辺をｉｎ　ｓｉｌｉｃｏ技術を用いて解析し、空間的立体結合のアプローチを調べた。静電気力、ファンデルワールス力、親水性およびエントロピー値を計算した解析により、ヒトＢＤＣＡ２と作用し、空間的フレームワークを維持できるマウス抗体遺伝子配列の主要アミノ酸を求め、次いでこれらのアミノ酸を選択したヒト生殖細胞系遺伝子フレームワークにグラフトし戻し、これを基に保持すべきフレームワーク領域のアミノ酸部位を同定した後、ヒト化抗体を合成した。これに基づいて、様々なヒト化抗体可変領域配列を取得し、ヒト化抗ＢＤＣＡ２抗体の設計された可変領域の様々な組み合わせを作製し、可変領域のアミノ酸配列が表３に明示されるヒト化抗ＢＤＣＡ２抗体を得た。

【０１８８】

Ｈｕ００５系列ヒト化抗体（ＫＡＢＡＴスキーム）の可変領域のＣＤＲを以下に示す：
ＨＣＤＲ１：ＮＹＧＶＨ（配列番号１１）
ＨＣＤＲ２：ＶＩＷＳＧＥＳＴＤＹＤＡＡＦＩＳ（配列番号１２）
ＨＣＤＲ３：ＲＲＳＨＹＹＧＹＶＭＤＹ（配列番号１３）
ＬＣＤＲ１：ＫＡＳＱＳＩＤＹＤＡＩＧＹＬＮ（配列番号８６）
ＬＣＤＲ２：ＡＡＳＮＬＥＳ（配列番号１５）
ＬＣＤＲ３：ＱＱＳＮＥＤＰＰＴ（配列番号１６）

【０１８９】

Ｈｕ００３系列ヒト化抗体（ＫＡＢＡＴスキーム）の可変領域のＣＤＲを以下に示す：
ＨＣＤＲ１：ＳＹＧＭＳ（配列番号５２）
ＨＣＤＲ２：ＴＩＳＳＧＤＳＹＴＹＹＰＤＳＶＫＧ（配列番号３９）
ＨＣＤＲ３：ＱＩＹＹＤＹＡＹＹＦＤＦ（配列番号５３）
ＬＣＤＲ１：ＲＡＳＥＳＶＳＦＲＴＳＨＬＭＨ（配列番号５４）
ＬＣＤＲ２：ＧＡＳＮＬＥＳ（配列番号５５）
ＬＣＤＲ３：ＱＱＳＩＥＤＰＰＴ（配列番号４２）

【０１９０】

【表３】

表3 抗 BDCA2 ヒト化抗体の可変領域のアミノ酸配列

抗体	VH	VL	抗体	VH	VL	抗体	VH	VL
Hu033-01	配列番号87	配列番号135	Hu033-17	配列番号103	配列番号151	Hu005-09	配列番号119	配列番号167
Hu033-02	配列番号88	配列番号136	Hu033-18	配列番号104	配列番号152	Hu005-10	配列番号120	配列番号168
Hu033-03	配列番号89	配列番号137	Hu033-19	配列番号105	配列番号153	Hu005-11	配列番号121	配列番号169
Hu033-04	配列番号90	配列番号138	Hu033-20	配列番号106	配列番号154	Hu005-12	配列番号122	配列番号170
Hu033-05	配列番号91	配列番号139	Hu033-21	配列番号107	配列番号155	Hu005-13	配列番号123	配列番号171
Hu033-06	配列番号92	配列番号140	Hu033-22	配列番号108	配列番号156	Hu005-14	配列番号124	配列番号172
Hu033-07	配列番号93	配列番号141	Hu033-23	配列番号109	配列番号157	Hu005-15	配列番号125	配列番号173
Hu033-08	配列番号94	配列番号142	Hu033-24	配列番号110	配列番号158	Hu005-16	配列番号126	配列番号174
Hu033-09	配列番号95	配列番号143	Hu005-01	配列番号111	配列番号159	Hu005-17	配列番号127	配列番号175
Hu033-10	配列番号96	配列番号144	Hu005-02	配列番号112	配列番号160	Hu005-18	配列番号128	配列番号176
Hu033-11	配列番号97	配列番号145	Hu005-03	配列番号113	配列番号161	Hu005-19	配列番号129	配列番号177
Hu033-12	配列番号98	配列番号146	Hu005-04	配列番号114	配列番号162	Hu005-20	配列番号130	配列番号178
Hu033-13	配列番号99	配列番号147	Hu005-05	配列番号115	配列番号163	Hu005-21	配列番号131	配列番号179
Hu033-14	配列番号100	配列番号148	Hu005-06	配列番号116	配列番号164	Hu005-22	配列番号132	配列番号180
Hu033-15	配列番号101	配列番号149	Hu005-07	配列番号117	配列番号165	Hu005-23	配列番号133	配列番号181
Hu033-16	配列番号102	配列番号150	Hu005-08	配列番号118	配列番号166	Hu005-24	配列番号134	配列番号182

【０１９１】

実施例１０　ヒト化抗ＢＤＣＡ２抗体のスクリーニング

１０．１．　ＢＤＣＡ２に対するヒト化抗体の結合活性

対数増殖期まで培養したＣＨＯＫ１－ヒトＢＤＣＡ２細胞および２９３Ｆ－ｃｙｎｏＢＤＣＡ２細胞をＴｒｙｐＬＥでトリプシン処理した。細胞を回復させ、ＦＡＣＳバッファー（ＰＢＳ＋２％ＦＢＳ）で２×１０^{6}／ｍＬとなるように再懸濁させた。懸濁した細胞を３７９９細胞プレートに１００μＬ／ウェルで加え、３００ｇで遠心分離した後に上清を廃棄した。検出すべき抗体をＦＡＣＳバッファー（終濃度０．０１２ｎＭ～２００ｎＭ）で５倍段階希釈し、希釈した抗体を遠心分離細胞に加え、細胞を再懸濁させた。細胞を

４℃で１時間インキュベートした。インキュベートした細胞を３００ｇで５分間遠心分離し、ＦＡＣＳバッファーで２回洗浄した。１００μＬヤギ抗ヒトＩｇＧ（Ｈ＋Ｌ）Ｃｒｏｓｓ－Ａｄｓｏｒｂｅｄ Ｓｅｃｏｎｄａｒｙ Ａｎｔｉｂｏｄｙ，Ａｌｅｘａ Ｆｌｕｏｒ ４８８（Ｓｉｇｍａ、Ａ１１０１３；１：１０００）二次抗体を加え、４℃で１時間インキュベートした後、ＦＡＣＳバッファーで２回洗浄した。細胞をＰＢＳで再懸濁させ、次いで細胞表面に結合した抗体の蛍光シグナルをＦＡＣＳ（ＢＤ ＦＡＣＳ ＣａｎｔｏＴＭ ＩＩ）装置で分析し、ＧｒａｐｈＰａｄ Ｐｒｉｓｍ６で曲線を当てはめ、ＢＤＣＡ２抗原に結合する抗体のＥＣ$_{50}$値を算出した。ＢＩＩＢ０５９抗体を陽性対照として選択し、ｈｌｇＧ１を陰性対照として選択した。

【０１９２】

ｍＡｂ０３３配列のヒト化の後に得られた、ＣＨＯＫ１－ヒトＢＤＣＡ２細胞および２９３Ｆ－ｃｙｎｏＢＤＣＡ２細胞に対する結合活性が陽性対照ＢＩＩＢ０５９抗体より高かった候補抗体を表４に示す。ヒトＢＤＣＡ２に対する抗体の親和性を、ＳＰＲを用いて決定したところ、選択した抗体は、ヒトＢＤＣＡ２に対して、陽性対照ＢＩＩＢ０５９抗体よりも強い親和性を持っていた。

【０１９３】

【表４】

表 4 BDCA2 に対する mAb033 系列ヒト化抗体の結合活性

抗体番号	CHOK1-hBDCA2 EC_{50}（nM）	293F-cynoBDCA2 EC_{50}（nM）
BIIB059	1.30	1.63
hIgG1	-	-
mAb033c	0.26	0.56
Hu033-02(BM2)	0.44	1.20
Hu033-03(BM3)	0.50	1.40
Hu033-04(BM0)	0.61	1.33
Hu033-06(BM3)	0.62	1.41
Hu033-08(BM2)	0.62	1.53
Hu033-10(BM4)	0.51	1.27
Hu033-12(BM2)	0.45	1.07
Hu033-13(BM4)	0.68	1.13
Hu033-15(BM2)	0.76	1.27
Hu033-16(BM4)	0.63	1.37
Hu033-20(BM3)	0.64	1.22
Hu033-23(BM3)	0.79	1.24

注: "-"は検出されなかったことを示す。

【０１９４】

表５に示されるように、ｍＡｂ００５配列のヒト化から得られた候補抗体は、陽性対照ＢＩＩＢ０５９抗体よりも良好なＥＣ$_{50}$値でＣＨＯＫ１－ヒトＢＤＣＡ２細胞と結合した。同時に、ｍＡｂ００５配列のヒト化から得られた候補抗体は、２９３Ｆ－ｃｙｎｏＢＤＣＡ２細胞に対しても良好な結合活性を持っていた。

【０１９５】

【表５】

表５ BDCA2 に対する mAb005 系列ヒト化抗体の結合活性

抗体番号	CHOK1-hBDCA2 EC_{50}（nM）
mAb005c	2.2
BIIB059	3.1
hu005-03(BM4)	2.1
hu005-04(BM6)	2.3
hu005-07(BM5)	2.0
hu005-08(BM7)	2.3
hu005-24(BM6)	1.9

【０１９６】

１０．２．　ＣｐＧ－ＡがヒトＰＢＭＣ細胞からのサイトカインＩＦＮα放出を刺激するのを阻害するヒト化抗体の能力機能アッセイ

ヒトＰＢＭＣ細胞からのサイトカインＩＦＮα放出のＣｐＧ－Ａ刺激を阻害する一連のヒト化候補抗体分子を機能アッセイ用に選択した。低温保存されたヒトＰＢＭＣ細胞を回復させ、完全培地（１６４０＋１０％ＦＢＳ＋ｌ×ＮＥＡＡ＋ｌ×Ｌ－グルタミン）で一晩、１８時間インキュベートした。翌日、ＰＢＭＣ細胞を回収し、６００ｇで８分間遠心分離し、上清を廃棄した。細胞を培地（１６４０＋１０％ＦＢＳ）で８×ｌ0^{6}／ｍＬとなるように再懸濁させ、３７９９細胞培養プレートに１００μＬ／ウェルで加えた。供試抗体を培地（１６４０＋１０％ＦＢＳ）で、１０倍段階希釈し（終濃度０．０００１ｎＭ～１０ｎＭ、０点対照）、希釈した抗体をＰＢＭＣに５０μＬ／ウェルで加えた。細胞を再懸濁させ、３７℃で６時間インキュベートした。５０μＬの培地（１６４０＋１０％ＦＢＳ）で希釈した２μＭ　ＣｐＧ－Ａ（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ、ｔｌｒｌ－２２１６－５）を各ウェルに加え、十分混合し、３７℃で２０時間インキュベーションを続けた。３日目に、細胞培養プレートを４００ｇで５分間遠心分離し、細胞培養上清を回収し、上清中のサイトカインＩＦＮαをアッセイした。ＢＩＩＢ０５９抗体を陽性対照として選択し、ｈＩｇＧ１を陰性対照として選択した。

【０１９７】

抗体ＭＴ１／３／５（Ｍａｂｔｅｃｈ、３４２５－１Ｈ－２０）をＰＢＳで４μｇ／ｍＬに希釈し、ＣＯＲＮＩＮＧ　ＥＬＩＳＡプレートに１００μＬ／ウェルで加え、コーティングされたプレートを４℃で一晩インキュベートした。次に、抗体でコーティングされたプレートを排出し、ブロッキング溶液（ＰＢＳ＋１％ＢＳＡ）をプレートに３００μＬ／ウェルで加え、４℃で一晩インキュベートした。供試上清をブロッキング溶液で適当な濃度（一般に１：３～１：７の範囲）に希釈し、コーティングされたＥＬＩＳＡプレートに１００μＬ／ウェルで加えた。ＩＦＮα検出標品をブロッキング溶液で２倍段階希釈し（最高濃度を１０００ｐｇ／ｍＬとし、８濃度点、最終点を０とした）、コーティングされたＥＬＩＳＡプレートに１００μＬ／ウェルで加えた。ＥＬＩＳＡプレートをインキュベーター内で、３７℃で１時間インキュベートした。プレートを３回洗浄し、検出抗体ＭＴ２／４／６（１：１０００）を１００μＬ／ウェルで加え、インキュベーター内で、３７℃で１時間インキュベートした。プレートを３回洗浄し、二次抗体ＳＡ－ＨＲＰ（１：１０００）を１００μＬ／ウェルで加え、インキュベーター内で、３７℃で０．５時間インキュベートした。プレートを３回洗浄し、二次抗体ＳＡ－ＨＲＰ（１：１０００）を１００μＬ／ウェルで加えた後、３７℃で０．５時間インキュベートした。プレートを３回洗浄し、ＴＭＢ発色溶液を１００μＬ／ウェルで加え、適当な時点で１Ｍ　ＨＣ１を５０μＬ／ウェルで加えて反応を停止させた。ＯＤ４５０ｎｍ読み取り値をＥＬＩＳＡプレー

トリーダーで読み取り、ＧｒａｐｈＰａｄ　Ｐｒｉｓｍ６で曲線を当てはめた。ＯＤ値に相当する１０ｎＭ抗体の濃度を選択し、最大阻害率を
　阻害率＝（ＯＤ（ＩｇＧ１）－ＯＤ（Ａｂ））／ＯＤ（ＩｇＧ１）
として算出した。

【０１９８】

供試した全てのヒト化抗体は、ＣｐＧ－Ａにより刺激されるＰＢＭＣからのサイトカイン放出実験において、陽性対照抗体ＢＩＩＢ０５９よりも低いＥＣ$_{５０}$値でサイトカインＩＦＮαの分泌を阻害することができた。結果をさらに表６に示す。

【０１９９】

【表６】

表 6 ヒト化抗体は CpG-A により刺激される PBMC からのサイトカイン IFNα 放出を阻害

抗体番号	EC_{50}（nM）
BIIB059	0.04
hIgG1	-
mAb033c	0.02
Hu033-02(BM2)	0.02
Hu033-03(BM3)	0.01
Hu033-04(BM0)	0.03
Hu033-06(BM3)	0.02
Hu033-08(BM2)	0.02
Hu033-10(BM4)	0.01
Hu033-12(BM2)	0.02
Hu033-13(BM4)	0.01
Hu033-15(BM2)	0.02
Hu033-16(BM4)	0.01
Hu033-20(BM3)	0.01
Hu033-23(BM3)	0.03

注: "-"は検出されなかったことを示す。

【０２００】

１０．３．　ヒト化抗体の細胞内移行能の検出

対数増殖期まで培養したＣＨＯＫ１－ヒトＢＤＣＡ２細胞をＴｒｙｐＬＥでトリプシン処理した。細胞を回復させ、ＦＡＣＳバッファー（ＰＢＳ＋２％ＦＢＳ）で２×１０^{６}／ｍＬとなるように再懸濁させた。細胞を３７９９細胞プレートに１００μＬ／ウェルで加え、３００ｇで遠心分離した後に上清を廃棄し、細胞をアイスボックスに入れて冷却した。抗体をＦＡＣＳバッファーで段階希釈し（２濃度を設定：１００ｎＭ、１０ｎＭ；各３群：０時点；４℃、１時間；３７℃、１時間）、次いでアイスボックスに入れて１５分間冷却し、抗体を１５分後に遠心分離した細胞に加え、細胞を再懸濁させ、４℃で４０分間インキュベートした。インキュベートした細胞を３００ｇで５分間遠心分離し、ＦＡＣＳバッファーで２回洗浄した。０時点群の細胞を室温で１０分間、パラホルムアルデヒドで固定し、ＦＡＣＳバッファーで２回洗浄し、さらに２群の細胞を１００μＬのＦＡＣＳバッファーで再懸濁させ、４℃および３７℃でそれぞれ１時間インキュベートした。４℃で１時間および３７℃で１時間の群の細胞を室温で１０分間、パラホルムアルデヒドで固定し、ＦＡＣＳバッファーで２回洗浄した。３群の細胞に同時に１００μＬの二次抗体ヤギ抗ヒトＩｇＧ（Ｈ＋Ｌ）Ｃｒｏｓｓ－Ａｄｓｏｒｂｅｄ　Ｓｅｃｏｎｄａｒｙ　Ａｎｔｉ

ｂｏｄｙ－Ａｌｅｘａ　Ｆｌｕｏｒ　４８８（Ｓｉｇｍａ、Ａ１１０１３；１：１０００）を加え、４℃で１時間インキュベートした。細胞をＦＡＣバッファーで２回洗浄し、次いでＰＢＳで再懸濁させ、ＦＡＣＳ装置で分析し、表面シグナルのパーセンテージを算出した。

【０２０１】

結果を図４に示す。Ｈｕ００５およびＨｕ０３３の両群のヒト化抗体は、１００ｎＭおよび１０ｎＭ濃度で細胞内移行を生じ、ヒト化抗体の細胞内移行を媒介する能力は、陽性対照抗体ＢＩＩＢ０５９と同等であった。

【０２０２】

１０．４．　ヒト化抗体の親和性の検出

本発明のヒト化抗体の親和性は、ＢＩＡｃｏｒｅ実験により決定した：ＣＭ５チップのチャネル表面を５０ｍＭ　ＮＨＳと２００ｍＭ　ＥＤＣ（アミノカップリングキットのＮＨＳとＥＤＣ）の１：１混合物で活性化し、抗ヒトＩｇＧ（Ｆｃ）抗体（ｐＨ５．０の酢酸ナトリウム溶液で希釈、濃度は２５μｇ／ｍＬ）を４２０秒間注入した。次に、１Ｍエタノールアミンを１０Ｌ／分の流速で４２０秒間注入し、チップ上の余分な活性化カルボキシル基をブロックした。ヒト化抗体を、ランニングバッファーを用いて１ｕｇ／ｍＬに希釈した後、検出イオンチャネルのフローセルに１０Ｌ／分の流速で６０秒間注入して捕捉させた。組換えヒトＢＤＣＡ２を１×ＨＢＳ－ＥＰ＋（ｐＨ７．４）で５０または１００ｎＭとなるように希釈し、０．３９ｎＭまで１：２段階希釈した。各濃度勾配の供試サンプルｈＢＤＣＡ２を検出イオンチャネルに３０μＬ／分の流速で注入し、０濃度の２サンプルを用いてバックグラウンドシグナルを除いた。抗原と抗体の結合時間および解離時間はそれぞれ１８０秒および４００秒であった。データ解析は、Ｂｉａｃｏｒｅ　Ｉｎｓｉｇｈｔ　Ｅｖａｌｕａｔｉｏｎソフトウエア（バージョン２．０、１５．１２９３３）を用いて行った。１：１結合モデルを曲線の当てはめに選択し、参照チャネル（フローセル１）および０濃度のシグナルを減算した後に、動態パラメーターを算出した。アッセイの結果を下表７に示す。

【０２０３】

【表７】

表 7 ヒト化抗体の親和性

抗体番号	SPR		
Ab 番号	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (M)
BIIB059	1.67E+05	1.79E-04	1.07E-09
hIgG1			
mAb033c	6.98E+05	7.67E-05	1.10E-10
Hu033-02(BM2)	7.07E+05	1.69E-04	2.39E-10
Hu033-03(BM3)	5.76E+05	1.36E-04	2.36E-10
Hu033-04(BM0)	5.98E+05	1.93E-04	3.23E-10
Hu033-06(BM3)	7.33E+05	1.25E-04	1.70E-10
Hu033-08(BM2)	7.40E+05	1.69E-04	2.29E-10
Hu033-10(BM4)	5.89E+05	1.18E-04	2.00E-10
Hu033-12(BM2)	5.27E+05	1.49E-04	2.83E-10
Hu033-13(BM4)	4.54E+05	1.53E-04	3.38E-10
Hu033-15(BM2)	4.87E+05	2.27E-04	4.67E-10
Hu033-16(BM4)	5.69E+05	1.08E-04	1.91E-10
Hu033-20(BM3)	5.56E+05	1.49E-04	2.68E-10
Hu033-23(BM3)	4.66E+05	2.07E-04	4.44E-10

【０２０４】

実施例１１　ヒト化抗ＢＤＣＡ２抗体のＦｃ変異および抗体のスクリーニング

実施例１０で得られたヒト化抗体Ｈｕ０３３－０３およびＨｕ０３３－２０について、ＦｃγＲＩＩＡに対する親和性を増強するための変異のためにＦｃ部位を選択した。ヒト化抗体Ｈｕ０３３－０３－Ｔ１、Ｈｕ０３３－０３－Ｔ２、Ｈｕ０３３－０３－Ｔ３、Ｈｕ０３３－２０－Ｔ１、Ｈｕ０３３－２０－Ｔ２、およびＨｕ０３３－２０－Ｔ３を全て設計し、得られた重鎖および軽鎖コード配列はＧｅｎｓｃｒｉｐｔｓによって合成された。重鎖および軽鎖のアミノ酸配列を表８に示す。２９３Ｆを抗体発現用の宿主細胞として選択し、発現後の精製抗体に対して様々な特性評価試験を行った。

【０２０５】

【表８】

表 8: 変異型抗 BDCA2 ヒト化抗体の可変領域および全長のアミノ酸配列

抗体	VH	VL	HC	LC
Hu033-03-T1	配列番号 89	配列番号 137	配列番号 191	配列番号 186
Hu033-03-T2	配列番号 89	配列番号 137	配列番号 192	配列番号 186
Hu033-03-T3	配列番号 89	配列番号 137	配列番号 193	配列番号 186
Hu033-20-T1	配列番号 106	配列番号 154	配列番号 194	配列番号 187
Hu033-20-T2	配列番号 106	配列番号 154	配列番号 195	配列番号 187
Hu033-20-T3	配列番号 106	配列番号 154	配列番号 196	配列番号 187

【０２０６】

１１．１．　Ｆｃ変異はＦｃγＲＩＩＡに対する抗体親和性を増強する

抗体動態または親和性パラメーターを、ＢＩＡｃｏｒｅ　８Ｋおよび新たに固定したビオチン化ヒトＦｃγＲＩＩＡ（Ｒ１６７）／ＦｃγＲＩＩＡ（Ｈ１６７）ＳＡチップを用いて測定した。実験は２５℃で、１×ＨＢＳ－ＥＰ＋のランニングバッファー（１０ｍＭ　ＨＥＰＥＳ　ｐＨ７．４、１５０ｍＭ　ＮａＣｌ、３ｍＭ　ＥＤＴＡ、０．０５％界面活性剤Ｐ２０）を用いて行った。抗体をランニングバッファーで１：２の比率で濃度５０００ｎＭ、２５００ｎＭ、１２５０ｎＭ、６２５ｎＭ、３２１．５ｎＭ、１５６．２５ｎＭ、７８．１３ｎＭ、３９．０６ｎＭ、１９．５３ｎＭ、または９．７７ｎＭに希釈し、供試抗体を各濃度勾配でフローセル１およびフローセル２に３０μＬ／分の流速で注入した。抗体の結合時間および解離時間はそれぞれ６０秒および９０秒であった。２つの０濃度サンプルを用いてバックグラウンドシグナルを除いた。サンプルをマルチサイクル様式で注入し、分析物は各サイクルの終了時にチップ表面から完全に解離させることができ、再生工程は適用しなかった。データ解析はＢｉａｃｏｒｅ　Ｉｎｓｉｇｈｔ　Ｅｖａｌｕａｔｉｏｎソフトウエア（バージョン２．０．１５．１２９３３）を用いて行った。参照チャネル（フローセル１）および２つの０濃度シグナルを差し引いた後に曲線の当てはめおよび動態パラメーターの算出のために１：１結合モデルまたは定常状態モデルを用いて親和性分析を行った。

【０２０７】

ヒトＦｃγ　ＲＩＩＡ（Ｒ１６７）およびＦｃγ　ＲＩＩＡ（Ｈ１６７）の両サブタイプに対する変異抗体の親和性は、野生型Ｆｃに比べて有意に増強される。結果を表９－１および９－２に示す。

【０２０８】

【表９－１】

表 9-1 ヒト FcγRIIA に対する抗 BDCA2 ヒト化抗体の親和性(H167) (1:1 結合)

抗体	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (M)	親和性倍率
Hu033-03-T1	4.70E+05	2.30E-01	4.90E-07	2.3
Hu033-03-T2	5.70E+05	5.85E-02	1.03E-07	10.0
Hu033-03-T3	5.51E+05	8.94E-02	1.62E-07	7.3
Hu033-03	3.61E+05	3.39E-01	9.41E-07	-
Hu033-20-T1	4.94E+05	2.42E-01	4.89E-07	2.5
Hu033-20-T2	6.04E+05	5.77E-02	9.55E-08	12.1
Hu033-20-T3	5.63E+05	8.70E-02	1.54E-07	8.7
Hu033-20	4.39E+05	4.31E-01	9.81E-07	-

【０２０９】

【表９－２】

表 9-2 ヒト FcγRIIA に対する抗 BDCA2 ヒト化抗体の親和性(R167)(1:1 結合)

抗体	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (M)	親和性倍率
Hu033-03-T1	7.50E+05	2.32E-01	3.10E-07	4.0
Hu033-03-T2	1.96E+06	8.99E-02	4.58E-08	13.7
Hu033-03-T3	7.41E+05	2.25E-01	3.03E-07	4.4
Hu033-03	1.53E+06	7.82E-01	5.10E-07	=
Hu033-20-T1	7.98E+05	2.49E-01	3.12E-07	5.1
Hu033-20-T2	2.00E+06	8.21E-02	4.11E-08	17.7
Hu033-20-T3	6.83E+05	1.91E-01	2.79E-07	6.3
Hu033-20	1.45E+06	8.38E-01	5.78E-07	=

【０２１０】

１１．２．　Ｆｃ変異を有する抗体はＢＤＣＡ２に対する結合親和性を不変に維持する

ヒトＢＤＣＡ２およびＣｙｎｏ　ＢＤＣＡ２発現細胞に対するＦｃ変異抗体の結合能をＦＡＣＡにより検出した。

【０２１１】

実験方法は次の通りである。

【０２１２】

ＣＨＯＫ１－ヒトＢＤＣＡ２細胞および２９３Ｆ－ｃｙｎｏＢＤＣＡ２細胞をＴｒｙｐＬＥでトリプシン処理した。細胞を回復させ、ＦＡＣＳバッファー（ＰＢＳ＋２％ＦＢＳ）で２×１０^{6}／ｍＬとなるように再懸濁させた。細胞を３７９９細胞プレート（Ｃｏｒｎｉｎｇ）に１００μＬ／ウェルで加え、３００ｇで遠心分離した後に上清を廃棄した。抗体を、ＦＡＣＳバッファーを用い、開始濃度２００ｎＭとして１：５勾配で希釈し、希釈した抗体を遠心分離細胞に加え、細胞を再懸濁させた。細胞を４℃で１時間インキュベートした。インキュベートした細胞を３００ｇで５分間遠心分離し、ＦＡＣＳバッファーで洗浄した。１００μＬのロバ抗マウスＩｇＧ（Ｈ＋Ｌ）Ｈｉｇｈｌｙ　Ｃｒｏｓｓ－Ａｄｓｏｒｂｅｄ　Ｓｅｃｏｎｄａｒｙ　Ａｎｔｉｂｉｄｙ－Ａｌｅｘａ　Ｆｌｕｏｒ　４８８（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ、Ａ２１２０２；１：１０００）二次抗体を加え、４℃で１時間インキュベートした後にＦＡＣＳバッファーで２回洗浄し、ＰＢＳで再懸濁させ、ＦＡＣＳ（ＢＤ　ＦＡＣＳ　ＣａｎｔｏＴＭ　ＩＩ）装置で分析し、ＧｒａｐｈＰａｄ　Ｐｒｉｓｍ６で曲線を当てはめ、ＥＣ$_{50}$値を算出した。

【０２１３】

ヒトＢＤＣＡ２に対するＦｃ変異抗体の結合能は、野生型Ｆｃよりもやや良好であり、参照抗体ＢＩＩＢ０５９よりも有意に良好であった。Ｃｙｎｏ　ＢＤＣＡ２に対するＦｃ変異抗体の結合能は、野生型ＦｃおよびＢＩＩＢ０５９よりも優れていた。結果を図５ａ、図５ｂ、および表１０に示す。

【０２１４】

【表１０】

表 10 ヒト BDCA2 に対するヒト化抗 BDCA2 抗体の結合親和性

抗体	EC_{50} ヒト BDCA2	EC_{50} Cyno BDCA2
Hu033-03-T1	1.625	3.321
Hu033-03-T2	1.542	3.064
Hu033-03-T3	1.422	2.728
Hu033-03	1.823	4.002
Hu033-20-T1	1.695	2.808
Hu033-20-T2	1.718	2.861
Hu033-20-T3	1.708	2.711
Hu033-20	1.858	3.201
BIIB059	3.811	4.382
HIgG1	~146.6	~364250

【０２１５】

１１．３．　抗体の細胞内移行能はＦｃ変異後も不変のままである

各抗体の細胞内移行能を、ＦＡＣＳを用いて検出した。

【０２１６】

ＣＨＯＫ１－ヒトＢＤＣＡ２細胞をＴｒｙｐＬＥでトリプシン処理した。細胞を回復させ、ＦＡＣＳバッファー（ＰＢＳ＋２％ＦＢＳ）で２×１０^{6}／ｍＬとなるように再懸濁させた。細胞を３７９９細胞プレートに１００μＬ／ウェルで加え、３００ｇで遠心分離した後に上清を廃棄し、細胞をアイスボックスに入れて冷却した。抗体をＦＡＣＳバッファーで１ｎＭ、１０ｎＭまたは１００ｎＭに段階希釈し（各抗体濃度について５セットの検出条件を設定：０時点；４℃、１時間；３７℃、１時間；４℃、４時間；３７℃、４時間）、次いでアイスボックスに入れて１５分間冷却し、抗体を１５分後に遠心分離した細胞に加え、細胞を再懸濁させ、４℃で４０分間インキュベートした。インキュベートした細胞を３００ｇで５分間遠心分離し、ＦＡＣＳバッファーで２回洗浄した。０時点群の細胞を室温で１０分間、パラホルムアルデヒドで固定し、ＦＡＣＳバッファーで２回洗浄し、さらに４群の細胞を１００μＬのＦＡＣＳバッファーで再懸濁させ、４℃および３７℃でそれぞれ１時間または４時間インキュベートした。４℃および３７℃で前記の時間、各群の細胞を室温で１０分間、パラホルムアルデヒドで固定し、ＦＡＣＳバッファーで２回洗浄した。５群の細胞に同時に１００μＬの二次抗体ヤギ抗ヒトＩｇＧ（Ｈ＋Ｌ）Ｃｒｏｓｓ－Ａｄｓｏｒｂｅｄ　Ｓｅｃｏｎｄａｒｙ　Ａｎｔｉｂｏｄｙ－Ａｌｅｘａ　Ｆｌｕｏｒ　４８８（Ｓｉｇｍａ、Ａ１１０１３；１：１０００）を加え、４℃で１時間インキュベートした。細胞をＦＡＣバッファーで２回洗浄し、次いでＰＢＳで再懸濁させ、ＦＡＣＳ装置で分析し、表面シグナルのパーセンテージを算出した。

【０２１７】

Ｆｃ変異抗体は、１００ｎＭ、１０ｎＭ、および１ｎＭの濃度で細胞内移行することが判明した。これらのタイプのＦｃの修飾は、抗体の細胞内移行には効果がない。詳しくは図６ａ～６ｆ参照。

【０２１８】

１１．４．　Ｆｃ変異抗体は抗体複合体ＳＬＥ－ＩＣにより刺激されるヒトＰＢＭＣ細胞からのサイトカインＩＦＮαの放出により強い阻害効果を有する

Ｆｃ修飾抗体の、抗体複合体により刺激されるヒトＰＢＭＣ細胞からのサイトカインＩＦＮαの放出を阻害する機能が検出された。低温保存されたヒトＰＢＭＣ細胞を回復させ、完全培地（１６４０＋１０％ＦＢＳ＋ｌ×ＮＥＡＡ＋ｌ×Ｌ－グルタミン）で一晩、１

８時間インキュベートした。翌日、ＰＢＭＣ細胞を回収し、６００ｇで８分間遠心分離し、上清を廃棄した。細胞を培地（１６４０＋１０％ＦＢＳ）で８×ｌ０^{6}／ｍＬとなるように再懸濁させ、３７９９細胞培養プレートに１００μＬ／ウェルで加えた。供試抗体を培地（１６４０＋１０％ＦＢＳ）で、５倍勾配で希釈し（０．００３２ｎＭ～１０ｎＭ、および０対照）、希釈した抗体をＰＢＭＣに５０μＬ／ウェルで加えた。細胞を再懸濁させ、３７℃で６時間インキュベートした。５０μＬ培地（１６４０＋１０％ＦＢＳ）で希釈した１０μｌ抗ＲＮＰ抗体（ＲａｙＢｉｏｔｅｃｈ、ＭＤ－１４－０５１３））と混合したＳＬＥ－ＩＣ（２．５μｌ　Ｓｍ／ＲＮＰ－抗原（ＡＲＯＴＥＣ、ＡＲＴ０１－１０））を各ウェルに加え、十分混合し、３７℃で２０時間インキュベートを続けた。３日目に細胞培養プレートを４００ｇで５分間遠心分離し、細胞培養上清を回収し、上清中のサイトカインＩＦＮαをアッセイした。ＢＩＩＢ０５９抗体を陽性対照として選択し、ｈＩｇＧ１を陰性対照として選択した。

【０２１９】

上清中のサイトカインＩＦＮαを検出した。抗体ＭＴ１／３／５（Ｍａｂｔｅｃｈ、３４２５－１Ｈ－２０）をＰＢＳで４μｇ／ｍＬに希釈し、ＣＯＲＮＩＮＧ　ＥＬＩＳＡプレートに１００μＬ／ウェルで加え、４℃で一晩インキュベートした。次に、抗体でコーティングされたプレートを排出し、ブロッキング溶液（ＰＢＳ＋１％ＢＳＡ）をプレートに３００μＬ／ウェルで加え、４℃で一晩インキュベートした。供試上清をブロッキング溶液で適当な濃度（場合に応じて１：３～１：７から選択）に希釈し、コーティングされたＥＬＩＳＡプレートに１００μＬ／ウェルで加えた。ＩＦＮα検出標品をブロッキング溶液で２倍段階希釈し（最高濃度を１０００ｐｇ／ｍＬとし、８濃度点、最終点を０とした）、コーティングされたＥＬＩＳＡプレートに１００μＬ／ウェルで加えた。ＥＬＩＳＡプレートをインキュベーター内で、３７℃で１時間インキュベートした。プレートを３回洗浄し、検出抗体ＭＴ２／４／６（１：１０００）を１００μＬ／ウェルで加え、インキュベーター内で、３７℃で１時間インキュベートした。プレートを３回洗浄し、二次抗体ＳＡ－ＨＲＰ（１：１０００）を１００μＬ／ウェルで加えた後、インキュベーター内で、３７℃で０．５時間インキュベートした。プレートを３回洗浄し、ＴＭＢ発色溶液を１００μＬ／ウェルで加え、適当な時点で１Ｍ　ＨＣ１を５０μＬ／ウェルで加えた。ＯＤ$_{450nm}$読み取り値をＥＬＩＳＡプレートリーダーで読み取り、ＧｒａｐｈＰａｄ　Ｐｒｉｓｍ６で曲線を当てはめ、ＥＣ$_{50}$を算出した。

【０２２０】

Ｆｃ修飾抗体は、ＳＬＥ－ＩＣ刺激条件下で野生型Ｆｃ抗体およびＢＩＩＢ０５９抗体に比べて強いＩＦＮα阻害効果を有し、０．０１６ｎＭで完全なＩＦＮα分泌阻害を達成した。詳しくは、図７および表１１参照。

【０２２１】

【表１１】

表 11: 変異ヒト化抗体は SLE-IC により刺激されるヒト PBMC 細胞からのサイトカイン IFNα の放出を阻害する

抗体濃度 (nM)	Hu033-03-T3	Hu033-03-T2	Hu033-03-T1	Hu033-03	Hu033-20-T2	Hu033-20-T3	Hu033-03-T1	Hu033-20	BIIB059	hIgG1
10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	182±38
2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	150±31.6
0.4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	162.4±8.5
0.08	-	-	-	33±19.6	-	-	-	11.2±15.8	-	N.A.
0.016	-	-	-	27±20.5	-	-	-	27.8±39.3	17.7±25	N.A.
0.0032	92.6±21	40.6±1	71.5±10.1	119.8±26.5	33.8±0.9	59.8±34.3	86.8±1	127±20	113.1±39.7	N.A.

注: "-" 検出限界を下回ることを示す; N.A. "は検出されなかったことを示す。

【０２２２】

本発明に記載された方法およびシステムの様々な修正および変形は、本発明の範囲および趣旨から逸脱することなく当業者には自明であろう。本発明を特定の好ましい実施形態に関して説明してきたが、特許請求される発明をそのような特定の実施形態に不当に限定すべきではないことを理解されたい。実際、本発明を実施するために記載された様式の種々の修正は、分子生物学、免疫学、または関連分野の当業者には自明であり、添付の特許請求の範囲に含まれることが意図される。

【０２２３】

配列表（全てアミノ酸配列であり、配列の定義／説明については本明細書の前節を参照されたい）：

配列番号	配列
配列番号1	DFSMH
配列番号2	WINTETGEPTYADDFKG
配列番号3	GGDGHPYWYFAV
配列番号4	RASQSVSTSSYSYMH
配列番号5	YASILES
配列番号6	QHSWEIPFT
配列番号7	DYSMH
配列番号8	GGDGFPYWYFNV
配列番号9	RASQSVSTSSNSYIH
配列番号10	YASNLDS
配列番号11	NYGVH
配列番号12	VIWSGESTDYDAAFIS
配列番号13	RRSHYYGYVMDY
配列番号14	KASQSIDYDGIGYLN
配列番号15	AASNLES
配列番号16	QQSNEDPPT
配列番号17	SYGVH
配列番号18	KASQSVDYDGVGYLN
配列番号19	DYYMY
配列番号20	YISYSGDSTYYPDTVKG
配列番号21	HSPSFPYYFDY
配列番号22	SASSSVSYMH

配列番号23	EISKLAS
配列番号24	QLWNYPLIT
配列番号25	SGYYWN
配列番号26	YISFDGTYNYNPSLKD
配列番号27	GVDYPNAIDW
配列番号28	RASESVSMHVTHLIH
配列番号29	VASNLES
配列番号30	QQSFEDPWT
配列番号31	SAYYWN
配列番号32	YITYDGNNYYSPSLKN
配列番号33	GGDYDDGGFAF
配列番号34	RASGNIHNYLA
配列番号35	NAKSLVD
配列番号36	QHFWIVPYT
配列番号37	GVDYPKAMDW
配列番号38	SFGMS
配列番号39	TISSGDSYTYYPDSV
配列番号40	QIYYDYAYYFDY
配列番号41	RASESVSFRSSHLMH
配列番号42	QQSIEDPPT
配列番号43	YISYDGSNNYNPSLKN
配列番号44	RASESVSIHGTHLMH
配列番号45	VASYLES
配列番号46	YITYDGSNNYNPSLKN
配列番号47	GGDYDDGGFAY
配列番号48	NAKTLVD
配列番号49	QHFWIIPYT
配列番号50	YISYDGSNYYNPSLKN
配列番号51	NAKTLAD
配列番号52	SYGMS
配列番号53	QIYYDYAYYFDF
配列番号54	RASESVSFRTSHLMH
配列番号55	GASNLES
配列番号56	YITYDGSNNYNPSLKD
配列番号57	QIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYTFTDFSMHWVKQAPGKGLKW MGWINTETGEPTYADDFKGRFAFSLETSASTAFLQINNLKNDDTTTYFC SRGGDGHPYWYFAVWGAGTTVTVSS
配列番号58	DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASQSVSTSSYSYMHWYQQKPGQPPK LLIKYASILESGVPARFSGSGSGTDFTLNIHPVEEEDTATYYCQHSWEIPF TFGSGTKLEIK
配列番号59	QIQLVQSGPELKKPGETVKISCRASGYSFTDYSMHWVKQAPGKGLKW VGWINTETGEPTYADDFKGRFALSLETSATSAYLQINNLKNEDTATYFC ARGGDGFPYWYFNVWGAGTTVTVSS
配列番号60	DIVLTQSPTSLAVSLGQRTNISCRASQSVSTSSNSYIHWYQQKPGQPPKL LIKYASNLDSGVPARFSGSGSGTDFTLNIHPVEEEDTSTYYCQHSWEIPF TFGSGTKLEIK

配列番号61	QVQLKQSGPGLVQPSQSLSITCTVSGFSLTNYGVHWVRQSPGKGLEWL GVIWSGESTDYDAAFISRLSISKDNSKSQVFFKMNSLQADDSAIYYCAR RRSHYYGYVMDYWGQGTSVTVSS
配列番号62	DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCKASQSIDYDGIGYLNWYQHKPGQPPK LLIYAASNLESGIPARFSGSGSGTDFTLNIHPVEEEDAATYYCQQSNEDP PTFGSGTKLEIK
配列番号63	QVQLKQSGPGLVQPSQSLSITCTVSGFSLTSYGVHWVRQSPGKGLEWL GVIWSGESTDYDAAFISRLSISKDNSKSQVFFRMNSLQADDSAIYYCAR RRSHYYGYVMDYWGQGTSVTVSS
配列番号64	DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCKASQSVDYDGVGYLNWYQHKPGQPP KLLIYAASNLESGIPARFSGSGSGTDFTLNIHPVEEEDAATYYCQQSNED PPTFGSGTKLEIK
配列番号65	EVKLVESGGDLVQPGGSLKLSCAASGFTFSDYYMYWVRQTPEKRLEW VAYISYSGDSTYYPDTVKGRFTISRDNAKNTLFLQMSRLKSEDTAMYY CARHSPSFPYYFDYWGQGTALTVSS
配列番号66	EIVLTQSPAITAASLGQKVTITCSASSSVSYMHWYQQKSGTSPKPWIYEI SKLASGVPARFSGSGSGTSYSLTISSMEAEDAAIYYCQLWNYPLITFGGG TNLEIK
配列番号67	DVQLQESGPGLVKPSQSLSLTCSVTGYSIASGYYWNWIRQFPGNKLEW MGYISFDGTYNYNPSLKDRFSITRDTSKNQFFLKLNSVTTEDTATYYCA RGVDYPNAIDWWGQGTSVTVSS
配列番号68	DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASESVSMHVTHLIHWYQQKPGQPPK LLIYVASNLESGVPARFSGSGSETDFTLNIHPVEEEDAATYFCQQSFEDP WTFGGGTKLEIK
配列番号69	DVQLQESGPGLVKPSQSLSLTCSVTGYSITSAYYWNWIRQFPGNKLEC MGYITYDGNNYYSPSLKNRISITRDTSKNQFFLNLNSVTTEDTATYFCAR GGDYDDGGFAFWGQGTLVTVSA
配列番号70	DIQMTQSPASLSASVGETVTITCRASGNIHNYLAWYHQKQGKSPQLLV YNAKSLVDGVPSRFSGSGSGTQYSLRINSLQPEDFGSYYCQHFWIVPYT FGGGTKLEII
配列番号71	DVQLQESGPGLVKPSQSLSLTCSVTGYSITSGYYWNWIRQFPGNKLEW MGYISFDGTYNYNPSLKDRFSITRDTSKNQFFLKLNSVTTEDTATYYCA RGVDYPKAMDWWGQGTSVTVSS
配列番号72	EVQLVESGGDLVKPGGSLKLSCAASGFTFSSFGMSWVRQTPDKRLDW VATISSGDSYTYYPDSVKGRFSISRDNAKNTLYLQMSSLKSEDTAVYYC ARQIYYDYAYYFDYWGQGTTLTVSS
配列番号73	DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASESVSFRSSHLMHWYRQKPGQPPK LLIYAASNLESGVPARFSGSGSETDFTLNIHPVEEEDAAAYFCQQSIEDPP TFGGGTKLEIK
配列番号74	DVQLQESGPGLVKPSQSLSLTCSVTGYSITSAYYWNWIRQFPGHKLEW MGYISYDGSNNYNPSLKNRISITRDTSKNQFFLKLNSVTTEDTATYHCA RGVDYPNAIDWWGQGTSLTVSS
配列番号75	DIVLTQSPTSLTVSLGQRATISCRASESVSIHGTHLMHWYQQKPGQPPK LLIYVASYLESGVPARFSGSGSETDFSLNIHPVEEEDAATYFCQQSFEDP WTFGGGTKLEIK
配列番号76	DVQLQESGPGLVKPSQSLSLTCSVTGYSITSAYYWNWVRQFPGNQLEC MGYITYDGSNNYNPSLKNRISITRDTSKNQFFLKLNSVTTEDTATYYCV RGGDYDDGGFAYWGQGTLVTVSA
配列番号77	DIQMTQSPASLSASVGETVTITCRASGNIHNYLAWYQQKQGKSPQLLV YNAKTLVDGVPSRFSGSGSGTEYSLKINSLQPEDFGIYFCQHFWIIPYTFG

	GGTKLEIR
配列番号78	DVQLQESGPGLVKPSQSLSLTCSVTGYSISSGYYWNWIRQFPGNKLEC MGYISYDGSNYYNPSLKNRISITRDTSKNQFFLSLNSVTTEDTATYFCVR GGDYDDGGFAYWGQGTLVTVSA
配列番号79	DIQMTQSPASLSASVGETVTITCRASGNIHNYLAWYQQKQGKSPQLLV YNAKTLADGVPSRFSGSGSETQYSLKINSLQPEDFGNYFCQHFWIIPYTF GGGTKLEIK
配列番号80	DVQLQESGPGLVKPSQSLSLTCSVTGYSITSAYYWNWIRQFPGNKLEC MGYISYDGSNYYNPSLKNRISITRDTSKNQFFLSLNSVTTEDTATYFCVR GGDYDDGGFAYWGQGTLVTVSA
配列番号81	DVQLQESGPGLVKPSQSLSLTCSVTGYSITSGYYWNWIRQFPGNKLEC MGYISYDGSNYYNPSLKNRISITRDTSKNQFFLSLNSVTTEDTATYFCVR GGDYDDGGFAYWGQGTLVTVSA
配列番号82	EVQMVESGGDLVKPGDSLKLSCAASGFTFRSYGMSWVRQTPDKRLEW VATISSGDSYTYYPDSVKGRFTISRDNAKNTLYLQMSSLKSEDTALYYC ARQIYYDYAYYFDFWGQGTTLTVSS
配列番号83	DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASESVSFRTSHLMHWYQQKPGQPPK LLIYGASNLESGVPARFSGSGSETDFTLNIHPVEEEDAAAYFCQQSIEDPP TFGGGTKLEIK
配列番号84	DVQLQESGPGLVKPSQSLSLTCSVTGYSITSGYYWNWIRQFPGNKLEC MGYITYDGSNNYNPSLKDRISITRDTSKNQFFLKLNSVTTEDTATYYCA RGGDYDDGGFAYWGHGTLVTVSA
配列番号85	DIQMTQSPVSLSASVGETVTITCRASGNIHNYLAWYQQKQGKSPQLLV YNAKSLVDGVPSRFSGSGSGTQYSLKINSLQPEDFGSYYCQHFWIIPYTF GGGTKLEIK
配列番号86	KASQSIDYDAIGYLN
配列番号87	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMSWVRQAPGKGLEW VSTISSGDSYTYYPDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYC ARQIYYDYAYYFDFWGQGTTVTVSS
配列番号88	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMSWVRQAPGKGLEW VSTISSGDSYTYYPDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYC ARQIYYDYAYYFDFWGQGTTVTVSS
配列番号89	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMSWVRQAPGKGLEW VSTISSGDSYTYYPDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYC ARQIYYDYAYYFDFWGQGTTVTVSS
配列番号90	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMSWVRQAPGKGLEW VSTISSGDSYTYYPDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYC ARQIYYDYAYYFDFWGQGTTVTVSS
配列番号91	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMSWVRQAPGKGLEW VSTISSGDSYTYYPDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYC ARQIYYDYAYYFDFWGQGTTVTVSS
配列番号92	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMSWVRQAPGKGLEW VSTISSGDSYTYYPDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYC ARQIYYDYAYYFDFWGQGTTVTVSS
配列番号93	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMSWVRQAPGKGLEW VSTISSGDSYTYYPDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYC ARQIYYDYAYYFDFWGQGTTVTVSS
配列番号94	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMSWVRQAPGKGLEW VSTISSGDSYTYYPDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYC ARQIYYDYAYYFDFWGQGTTVTVSS

配列番号95	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFRSYGMSWVRQAPGKRLEW VSTISSGDSYTYYPDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYC ARQIYYDYAYYFDFWGQGTTVTVSS
配列番号96	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFRSYGMSWVRQAPGKRLEW VSTISSGDSYTYYPDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYC ARQIYYDYAYYFDFWGQGTTVTVSS
配列番号97	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFRSYGMSWVRQAPGKRLEW VSTISSGDSYTYYPDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYC ARQIYYDYAYYFDFWGQGTTVTVSS
配列番号98	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFRSYGMSWVRQAPGKRLEW VSTISSGDSYTYYPDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYC ARQIYYDYAYYFDFWGQGTTVTVSS
配列番号99	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFRSYGMSWVRQAPGKRLEW VSTISSGDSYTYYPDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYC ARQIYYDYAYYFDFWGQGTTVTVSS
配列番号 100	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFRSYGMSWVRQAPGKRLEW VSTISSGDSYTYYPDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYC ARQIYYDYAYYFDFWGQGTTVTVSS
配列番号 101	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFRSYGMSWVRQAPGKRLEW VSTISSGDSYTYYPDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYC ARQIYYDYAYYFDFWGQGTTVTVSS
配列番号 102	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFRSYGMSWVRQAPGKRLEW VSTISSGDSYTYYPDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYC ARQIYYDYAYYFDFWGQGTTVTVSS
配列番号 103	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFRSYGMSWVRQAPGKRLEW VSTISSGDSYTYYPDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLKAEDTAVYYC ARQIYYDYAYYFDFWGQGTTVTVSS
配列番号 104	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFRSYGMSWVRQAPGKRLEW VSTISSGDSYTYYPDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLKAEDTAVYYC ARQIYYDYAYYFDFWGQGTTVTVSS
配列番号 105	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFRSYGMSWVRQAPGKRLEW VSTISSGDSYTYYPDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLKAEDTAVYYC ARQIYYDYAYYFDFWGQGTTVTVSS
配列番号 106	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFRSYGMSWVRQAPGKRLEW VSTISSGDSYTYYPDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLKAEDTAVYYC ARQIYYDYAYYFDFWGQGTTVTVSS
配列番号 107	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFRSYGMSWVRQAPGKRLEW VSTISSGDSYTYYPDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLKAEDTAVYYC ARQIYYDYAYYFDFWGQGTTVTVSS
配列番号 108	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFRSYGMSWVRQAPGKRLEW VSTISSGDSYTYYPDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLKAEDTAVYYC ARQIYYDYAYYFDFWGQGTTVTVSS
配列番号 109	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFRSYGMSWVRQAPGKRLEW VSTISSGDSYTYYPDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLKAEDTAVYYC ARQIYYDYAYYFDFWGQGTTVTVSS
配列番号 110	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFRSYGMSWVRQAPGKRLEW VSTISSGDSYTYYPDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLKAEDTAVYYC ARQIYYDYAYYFDFWGQGTTVTVSS
配列番号 111	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISNYGVHWIRQPPGKGLEWIG VIWSGESTDYDAAFISRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARR RSHYYGYVMDYWGQGTTVTVSS

配列番号 112	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISNYGVHWIRQPPGKGLEWIG VIWSGESTDYDAAFISRVTISKDNSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARR RSHYYGYVMDYWGQGTTVTVSS
配列番号 113	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSITNYGVHWIRQPPGKGLEWIG VIWSGESTDYDAAFISRVTISKDNSKNQVSLKLSSVTAADTAVYYCARR RSHYYGYVMDYWGQGTTVTVSS
配列番号 114	QVQLQQSGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSLTNYGVHWIRQPPGKGLEWI GVIWSGESTDYDAAFISRVTISKDNSKNQVSLKLSSVTAADTAVYYCAR RRSHYYGYVMDYWGQGTTVTVSS
配列番号 115	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISNYGVHWIRQPPGKGLEWIG VIWSGESTDYDAAFISRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARR RSHYYGYVMDYWGQGTTVTVSS
配列番号 116	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISNYGVHWIRQPPGKGLEWIG VIWSGESTDYDAAFISRVTISKDNSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARR RSHYYGYVMDYWGQGTTVTVSS
配列番号 117	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSITNYGVHWIRQPPGKGLEWIG VIWSGESTDYDAAFISRVTISKDNSKNQVSLKLSSVTAADTAVYYCARR RSHYYGYVMDYWGQGTTVTVSS
配列番号 118	QVQLQQSGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSLTNYGVHWIRQPPGKGLEWI GVIWSGESTDYDAAFISRVTISKDNSKNQVSLKLSSVTAADTAVYYCAR RRSHYYGYVMDYWGQGTTVTVSS
配列番号 119	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISNYGVHWIRQPPGKGLEWIG VIWSGESTDYDAAFISRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARR RSHYYGYVMDYWGQGTTVTVSS
配列番号 120	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISNYGVHWIRQPPGKGLEWIG VIWSGESTDYDAAFISRVTISKDNSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARR RSHYYGYVMDYWGQGTTVTVSS
配列番号 121	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSITNYGVHWIRQPPGKGLEWIG VIWSGESTDYDAAFISRVTISKDNSKNQVSLKLSSVTAADTAVYYCARR RSHYYGYVMDYWGQGTTVTVSS
配列番号 122	QVQLQQSGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSLTNYGVHWIRQPPGKGLEWI GVIWSGESTDYDAAFISRVTISKDNSKNQVSLKLSSVTAADTAVYYCAR RRSHYYGYVMDYWGQGTTVTVSS
配列番号 123	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISNYGVHWIRQPPGKGLEWIG VIWSGESTDYDAAFISRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARR RSHYYGYVMDYWGQGTTVTVSS
配列番号 124	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISNYGVHWIRQPPGKGLEWIG VIWSGESTDYDAAFISRVTISKDNSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARR RSHYYGYVMDYWGQGTTVTVSS
配列番号 125	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSITNYGVHWIRQPPGKGLEWIG VIWSGESTDYDAAFISRVTISKDNSKNQVSLKLSSVTAADTAVYYCARR RSHYYGYVMDYWGQGTTVTVSS
配列番号 126	QVQLQQSGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSLTNYGVHWIRQPPGKGLEWI GVIWSGESTDYDAAFISRVTISKDNSKNQVSLKLSSVTAADTAVYYCAR RRSHYYGYVMDYWGQGTTVTVSS
配列番号 127	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISNYGVHWIRQPPGKGLEWIG VIWSGESTDYDAAFISRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARR RSHYYGYVMDYWGQGTTVTVSS
配列番号 128	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISNYGVHWIRQPPGKGLEWIG VIWSGESTDYDAAFISRVTISKDNSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARR RSHYYGYVMDYWGQGTTVTVSS

配列番号 129	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSITNYGVHWIRQPPGKGLEWIG VIWSGESTDYDAAFISRVTISKDNSKNQVSLKLSSVTAADTAVYYCARR RSHYYGYVMDYWGQGTTVTVSS
配列番号 130	QVQLQQSGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSLTNYGVHWIRQPPGKGLEWI GVIWSGESTDYDAAFISRVTISKDNSKNQVSLKLSSVTAADTAVYYCAR RRSHYYGYVMDYWGQGTTVTVSS
配列番号 131	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISNYGVHWIRQPPGKGLEWIG VIWSGESTDYDAAFISRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARR RSHYYGYVMDYWGQGTTVTVSS
配列番号 132	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISNYGVHWIRQPPGKGLEWIG VIWSGESTDYDAAFISRVTISKDNSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARR RSHYYGYVMDYWGQGTTVTVSS
配列番号 133	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSITNYGVHWIRQPPGKGLEWIG VIWSGESTDYDAAFISRVTISKDNSKNQVSLKLSSVTAADTAVYYCARR RSHYYGYVMDYWGQGTTVTVSS
配列番号 134	QVQLQQSGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSLTNYGVHWIRQPPGKGLEWI GVIWSGESTDYDAAFISRVTISKDNSKNQVSLKLSSVTAADTAVYYCAR RRSHYYGYVMDYWGQGTTVTVSS
配列番号 135	DIVLTQSPASLAVSPGQRATITCRASESVSFRTSHLMHWYQQKPGQPPK LLIYGASNLESGVPARFSGSGSGTDFTLTINPVEANDTANYYCQQSIEDP PTFGGGTKVEIK
配列番号 136	DIVLTQSPASLAVSPGQRATITCRASESVSFRTSHLMHWYQQKPGQPPK LLIYGASNLESGVPARFSGSGSETDFTLTINPVEAEDTANYYCQQSIEDPP TFGGGTKVEIK
配列番号 137	DIVLTQSPASLAVSPGQRATITCRASESVSFRTSHLMHWYQQKPGQPPK LLIYGASNLESGVPARFSGSGSETDFTLTINPVEAEDTANYFCQQSIEDPP TFGGGTKVEIK
配列番号 138	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVSFRTSHLMHWYQQKPGQPP KLLIYGASNLESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQSIED PPTFGGGTKVEIK
配列番号 139	DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVSFRTSHLMHWYQQKPGQPPK LLIYGASNLESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYFCQQSIEDPP TFGGGTKVEIK
配列番号 140	DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVSFRTSHLMHWYQQKPGQPPK LLIYGASNLESGVPDRFSGSGSETDFTLTISPLQAEDVAVYFCQQSIEDPP TFGGGTKVEIK
配列番号 141	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASESVSFRTSHLMHWYQQKPGQAPR LLIYGASNLESGIPARFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQSIEDPPT FGGGTKVEIK
配列番号 142	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASESVSFRTSHLMHWYQQKPGQAPR LLIYGASNLESGIPARFSGSGSETDFTLTISRLEPEDFAVYFCQQSIEDPPT FGGGTKVEIK
配列番号 143	DIVLTQSPASLAVSPGQRATITCRASESVSFRTSHLMHWYQQKPGQPPK LLIYGASNLESGVPARFSGSGSGTDFTLTINPVEANDTANYYCQQSIEDP PTFGGGTKVEIK
配列番号 144	DIVLTQSPASLAVSPGQRATITCRASESVSFRTSHLMHWYQQKPGQPPK LLIYGASNLESGVPARFSGSGSETDFTLTINPVEAEDTANYYCQQSIEDPP TFGGGTKVEIK
配列番号 145	DIVLTQSPASLAVSPGQRATITCRASESVSFRTSHLMHWYQQKPGQPPK LLIYGASNLESGVPARFSGSGSETDFTLTINPVEAEDTANYFCQQSIEDPP TFGGGTKVEIK

配列番号 146	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVSFRTSHLMHWYQQKPGQPP KLLIYGASNLESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQSIED PPTFGGGTKVEIK
配列番号 147	DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVSFRTSHLMHWYQQKPGQPPK LLIYGASNLESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYFCQQSIEDPP TFGGGTKVEIK
配列番号 148	DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVSFRTSHLMHWYQQKPGQPPK LLIYGASNLESGVPDRFSGSGSETDFTLTISPLQAEDVAVYFCQQSIEDPP TFGGGTKVEIK
配列番号 149	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASESVSFRTSHLMHWYQQKPGQAPR LLIYGASNLESGIPARFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQSIEDPPT FGGGTKVEIK
配列番号 150	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASESVSFRTSHLMHWYQQKPGQAPR LLIYGASNLESGIPARFSGSGSETDFTLTISRLEPEDFAVYFCQQSIEDPPT FGGGTKVEIK
配列番号 151	DIVLTQSPASLAVSPGQRATITCRASESVSFRTSHLMHWYQQKPGQPPK LLIYGASNLESGVPARFSGSGSGTDFTLTINPVEANDTANYYCQQSIEDP PTFGGGTKVEIK
配列番号 152	DIVLTQSPASLAVSPGQRATITCRASESVSFRTSHLMHWYQQKPGQPPK LLIYGASNLESGVPARFSGSGSETDFTLTINPVEAEDTANYYCQQSIEDPP TFGGGTKVEIK
配列番号 153	DIVLTQSPASLAVSPGQRATITCRASESVSFRTSHLMHWYQQKPGQPPK LLIYGASNLESGVPARFSGSGSETDFTLTINPVEAEDTANYFCQQSIEDPP TFGGGTKVEIK
配列番号 154	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVSFRTSHLMHWYQQKPGQPP KLLIYGASNLESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQSIED PPTFGGGTKVEIK
配列番号 155	DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVSFRTSHLMHWYQQKPGQPPK LLIYGASNLESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYFCQQSIEDPP TFGGGTKVEIK
配列番号 156	DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVSFRTSHLMHWYQQKPGQPPK LLIYGASNLESGVPDRFSGSGSETDFTLTISPLQAEDVAVYFCQQSIEDPP TFGGGTKVEIK
配列番号 157	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASESVSFRTSHLMHWYQQKPGQAPR LLIYGASNLESGIPARFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQSIEDPPT FGGGTKVEIK
配列番号 158	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASESVSFRTSHLMHWYQQKPGQAPR LLIYGASNLESGIPARFSGSGSETDFTLTISRLEPEDFAVYFCQQSIEDPPT FGGGTKVEIK
配列番号 159	DIVLTQSPASLAVSPGQRATITCKASQSIDYdaIGYLNWYQQKPGQPPKL LIYAASNLESGVPARFSGSGSGTDFTLTINPVEANDTANYYCQQSNEDPP TFGQGTKLEIK
配列番号 160	DIVLTQSPASLAVSPGQRATITCKASQSIDYdaIGYLNWYQQKPGQPPKL LIYAASNLESGVPARFSGSGSGTDFTLTINPVEANDTANYYCQQSNEDPP TFGQGTKLEIK
配列番号 161	DIVLTQSPASLAVSPGQRATITCKASQSIDYdaIGYLNWYQQKPGQPPKL LIYAASNLESGVPARFSGSGSGTDFTLTINPVEANDTANYYCQQSNEDPP TFGQGTKLEIK
配列番号 162	DIVLTQSPASLAVSPGQRATITCKASQSIDYdaIGYLNWYQQKPGQPPKL LIYAASNLESGVPARFSGSGSGTDFTLTINPVEANDTANYYCQQSNEDPP TFGQGTKLEIK

配列番号 163	DIVLTQSPASLAVSPGQRATITCKASQSIDYdaIGYLNWYQHKPGQPPKL LIYAASNLESGVPARFSGSGSGTDFTLTINPVEANDTANYYCQQSNEDPP TFGQGTKLEIK
配列番号 164	DIVLTQSPASLAVSPGQRATITCKASQSIDYdaIGYLNWYQHKPGQPPKL LIYAASNLESGVPARFSGSGSGTDFTLTINPVEANDTANYYCQQSNEDPP TFGQGTKLEIK
配列番号 165	DIVLTQSPASLAVSPGQRATITCKASQSIDYdaIGYLNWYQHKPGQPPKL LIYAASNLESGVPARFSGSGSGTDFTLTINPVEANDTANYYCQQSNEDPP TFGQGTKLEIK
配列番号 166	DIVLTQSPASLAVSPGQRATITCKASQSIDYdaIGYLNWYQHKPGQPPKL LIYAASNLESGVPARFSGSGSGTDFTLTINPVEANDTANYYCQQSNEDPP TFGQGTKLEIK
配列番号 167	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCKASQSIDYdaIGYLNWYQQKPGQAPRL LIYAASNLESGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQSNEDPPT FGQGTKLEIK
配列番号 168	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCKASQSIDYdaIGYLNWYQQKPGQAPRL LIYAASNLESGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQSNEDPPT FGQGTKLEIK
配列番号 169	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCKASQSIDYdaIGYLNWYQQKPGQAPRL LIYAASNLESGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQSNEDPPT FGQGTKLEIK
配列番号 170	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCKASQSIDYdaIGYLNWYQQKPGQAPRL LIYAASNLESGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQSNEDPPT FGQGTKLEIK
配列番号 171	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCKASQSIDYdaIGYLNWYQHKPGQAPRL LIYAASNLESGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQSNEDPPT FGQGTKLEIK
配列番号 172	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCKASQSIDYdaIGYLNWYQHKPGQAPRL LIYAASNLESGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQSNEDPPT FGQGTKLEIK
配列番号 173	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCKASQSIDYdaIGYLNWYQHKPGQAPRL LIYAASNLESGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQSNEDPPT FGQGTKLEIK
配列番号 174	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCKASQSIDYdaIGYLNWYQHKPGQAPRL LIYAASNLESGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQSNEDPPT FGQGTKLEIK
配列番号 175	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKASQSIDYdaIGYLNWYQQKPGQPPK LLIYAASNLESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQSNEDP PTFGQGTKLEIK
配列番号 176	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKASQSIDYdaIGYLNWYQQKPGQPPK LLIYAASNLESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQSNEDP PTFGQGTKLEIK
配列番号 177	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKASQSIDYdaIGYLNWYQQKPGQPPK LLIYAASNLESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQSNEDP PTFGQGTKLEIK
配列番号 178	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKASQSIDYdaIGYLNWYQQKPGQPPK LLIYAASNLESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQSNEDP PTFGQGTKLEIK
配列番号 179	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQSIDYdaIGYLNWYQQKPGKAPKL LIYAASNLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSNEDPPT FGQGTKLEIK

配列番号 180	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQSIDYdaIGYLNWYQQKPGKAPKL LIYAASNLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSNEDPPT FGQGTKLEIK
配列番号 181	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQSIDYdaIGYLNWYQQKPGKAPKL LIYAASNLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSNEDPPT FGQGTKLEIK
配列番号 182	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQSIDYdaIGYLNWYQQKPGKAPKL LIYAASNLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSNEDPPT FGQGTKLEIK
配列番号 183	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMSWVRQAPGKGLEW VSTISSGDSYTYYPDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYC ARQIYYDYAYYFDFWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT ISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSLSPGK
配列番号 184	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFRSYGMSWVRQAPGKRLEW VSTISSGDSYTYYPDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLKAEDTAVYYC ARQIYYDYAYYFDFWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT ISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSLSPGK
配列番号 185	QVQLQQSGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSLTNYGVHWIRQPPGKGLEWI GVIWSGESTDYDAAFISRVTISKDNSKNQVSLKLSSVTAADTAVYYCAR RRSHYYGYVMDYWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAL GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSS SLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHN HYTQKSLSLSPGK
配列番号 186	DIVLTQSPASLAVSPGQRATITCRASESVSFRTSHLMHWYQQKPGQPPK LLIYGASNLESGVPARFSGSGSETDFTLTINPVEAEDTANYFCQQSIEDPP TFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKV QWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYAC EVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
配列番号 187	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVSFRTSHLMHWYQQKPGQPP KLLIYGASNLESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQSIED PPTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREA KVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVY ACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
配列番号 188	DIVLTQSPASLAVSPGQRATITCKASQSIDYdaIGYLNWYQQKPGQPPKL LIYAASNLESGVPARFSGSGSGTDFTLTINPVEANDTANYYCQQSNEDPP TFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKV

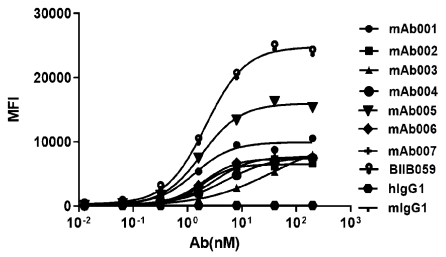
	QWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYAC EVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
配列番号 189	MDMRVPAQLLGLLLLWFPGSRCPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPGKIEGRNFMYSKTVKRLSKLREYQQYHPSLTCVMEGKDI EDWSCCPTPWTSFQSSCYFISTGMQSWTKSQKNCSVMGADLVVINTRE EQDFIIQNLKRNSSYFLGLSDPGGRRHWQWVDQTPYNENVTFWHSGEP NNLDERCAIINFRSSEEWGWNDIHCHVPQKSICKMKKIYI
配列番号 190	MDMRVPAQLLGLLLLWFPGSRCHHHHHHHNFMYSKTVKRLSKLQEYQ QYYPSLTCVMEGKDMEDWSCCPTPWTSFQSSCYFISTVMQSWTKSQNN CSVMGADLVVINTKEEQDFITQNLKINSAYFLGLSDPKGWRHWQWVD QTPYNKNVTFWHSGEPNSPDERCAIINFRSEEWGWNDVHCHVPQKSIC KMKKIYI
配列番号 191	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMSWVRQAPGKGLEW VSTISSGDSYTYYPDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYC ARQIYYDYAYYFDFWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPD VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPEEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEA LHNHYTQKSLSLSPGK
配列番号 192	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMSWVRQAPGKGLEW VSTISSGDSYTYYPDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYC ARQIYYDYAYYFDFWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLAGPD VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPEEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEA LHNHYTQKSLSLSPGK
配列番号 193	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMSWVRQAPGKGLEW VSTISSGDSYTYYPDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYC ARQIYYDYAYYFDFWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLAGPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPEEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEA LHNHYTQKSLSLSPGK
配列番号 194	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFRSYGMSWVRQAPGKRLEW VSTISSGDSYTYYPDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLKAEDTAVYYC ARQIYYDYAYYFDFWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPD VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA

	KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPEEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEA LHNHYTQKSLSLSPGK
配列番号 195	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFRSYGMSWVRQAPGKRLEW VSTISSGDSYTYYPDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLKAEDTAVYYC ARQIYYDYAYYFDFWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLAGPD VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPEEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEA LHNHYTQKSLSLSPGK
配列番号 196	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFRSYGMSWVRQAPGKRLEW VSTISSGDSYTYYPDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLKAEDTAVYYC ARQIYYDYAYYFDFWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLAGPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPEEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEA LHNHYTQKSLSLSPGK

【図面】

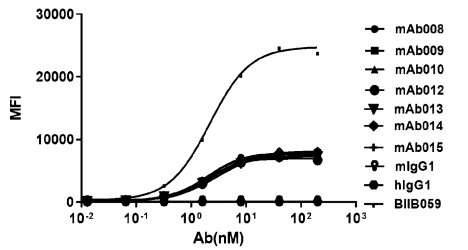
【図１－１】

a. 精製抗体のCHOK1-hBDCA2(1B2)との結合親和性



	mAb001	mAb002	mAb003	mAb004	mAb005	mAb006	mAb007	BIIB059
EC50	1.369	1.893	37.11	4.791	1.827	1.985	3.113	2.174

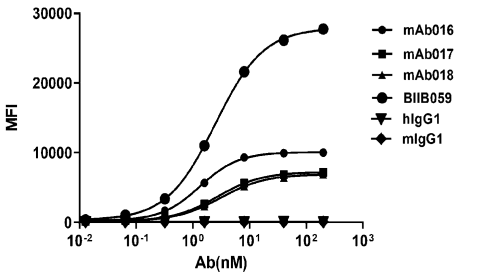
b. 精製抗体のCHOK1- hBDCA2との結合親和性



	mAb008	mAb009	mAb010	mAb012	mAb013	mAb014	mAb015	BIIB059
EC50	1.941	2.091	1.866	2.055	2.192	2.573	2.979	2.174

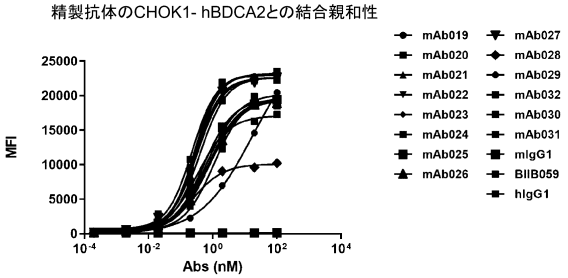
【図１－２】

c. 精製抗体のCHOK1- hBDCA2(1B2)との結合親和性



	mAb016	mAb017	mAb018	BIIB059
EC50	1.328	2.705	3.089	2.480

d. 精製抗体のCHOK1- hBDCA2との結合親和性

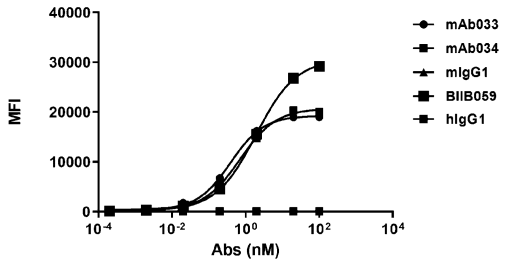


	mAb019	mAb020	mAb021	mAb022	mAb023	mAb024	mAb025
EC50	0.2710	0.7070	0.3284	0.7227	0.6618	0.3430	0.5204

	mAb026	mAb027	mAb028	mAb029	mAb030	mAb031	mAb032	BIIB059
EC50	0.7726	0.3020	0.2507	18.29	0.2928	0.3990	0.2249	1.090

【図１－３】

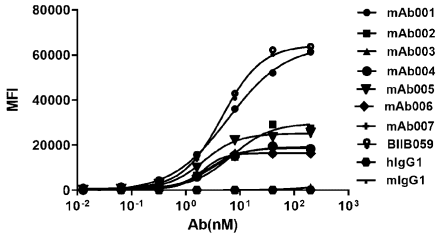
e. 精製抗体のCHOK1- hBDCA2との結合親和性



	mAb033	mAb034	mIgG1	BIIB059	hIgG1
EC50	0.3882	0.7047	~ 175684	1.910	~ 4.327e-062

【図２－１】

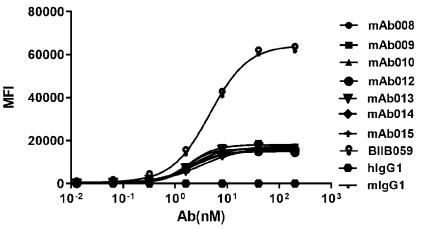
a. 精製抗体の293F-cynoBDCA2との結合親和性



	mAb001	mAb002	mAb003	mAb004	mAb005	mAb006	mAb007	BIIB059
EC50	6.076	7.047	345248	2.961	2.106	2.019	2.649	4.651

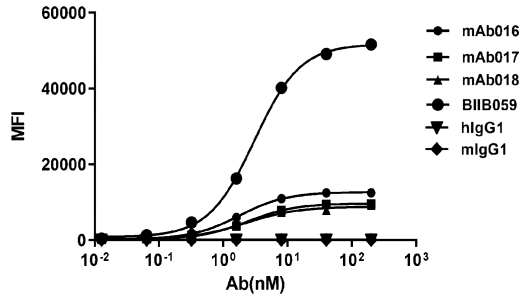
【図２－２】

b. 精製抗体の293F-cynoBDCA2との結合親和性



	mAb008	mAb009	mAb010	mAb012	mAb013	mAb014	mAb015	BIIB059
EC50	2.054	1.868	2.489	1.874	1.804	2.117	3.050	4.651

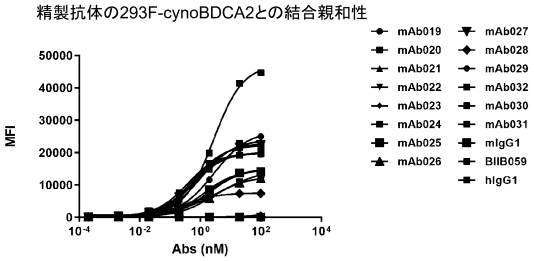
c. 精製抗体の293F-cynoBDCA2との結合親和性



	mAb016	mAb017	mAb018	BIIB059
EC50	1.781	2.439	2.202	3.047

【図２－３】

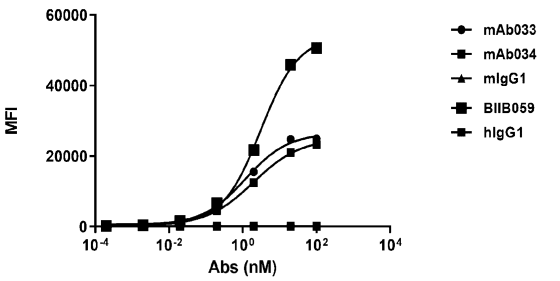
d. 精製抗体の293F-cynoBDCA2との結合親和性



	mAb019	mAb020	mAb021	mAb022	mAb023	mAb024	mAb025
EC50	0.4853	1.902	0.5662	1.964	101373	1.040	1.352

	mAb026	mAb027	mAb028	mAb029	mAb030	mAb031	mAb032	BIIB059
EC50	2.487	0.6805	0.2795	2.802	0.5662	4.144	0.3593	2.742

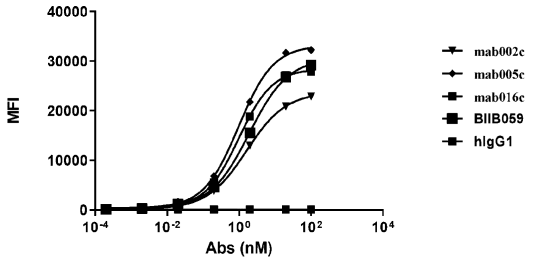
e. 精製抗体の293F-cynoBDCA2との結合親和性



	mAb033	mAb034	mIgG1	BIIB059	hIgG1
EC50	1.176	1.961	20.63	3.067	~ 21.75

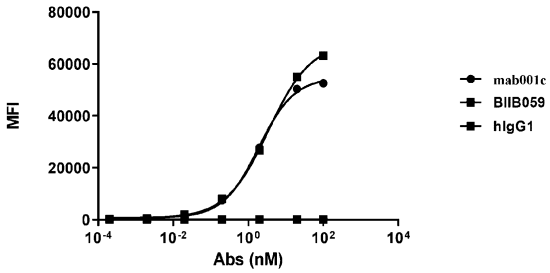
【図３－１】

a. FACSによる精製AbのCHOK1-hBDCA2との結合



	mab002c	mab005c	mab016c	BIIB059	hIgG1
EC50	1.612	0.9639	0.9772	1.910	~4.327e-062

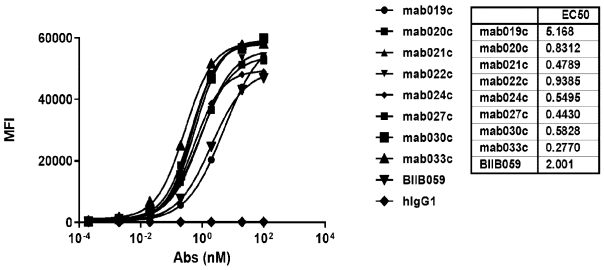
b. FACSによる精製AbのCHOK1-hBDCA2との結合



	mab001c	BIIB059	hIgG1
EC50	1.897	3.450	~61.26

【図３－２】

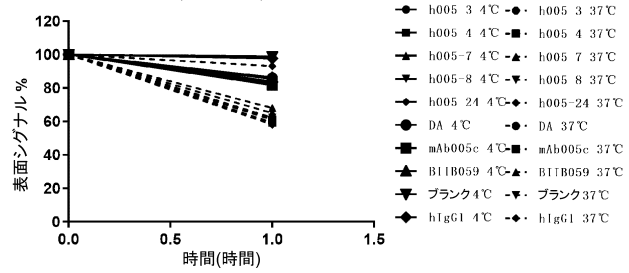
c. FACSによる精製キメラAbのCHOK1-hBDCA2との結合



	EC50
mab019c	5.168
mab020c	0.8312
mab021c	0.4789
mab022c	0.9385
mab024c	0.5495
mab027c	0.4430
mab030c	0.5828
mab033c	0.2770
BIIB059	2.001

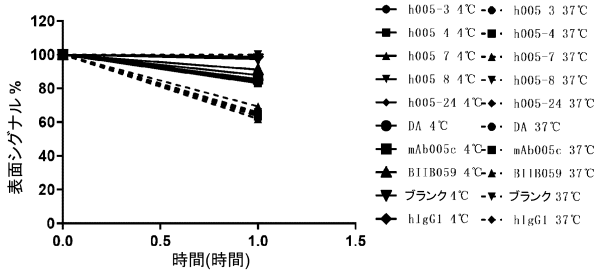
【図４－１】

a. CHOK1/hBDCA2に対するAbの細胞内移行
(Ab 100nM)

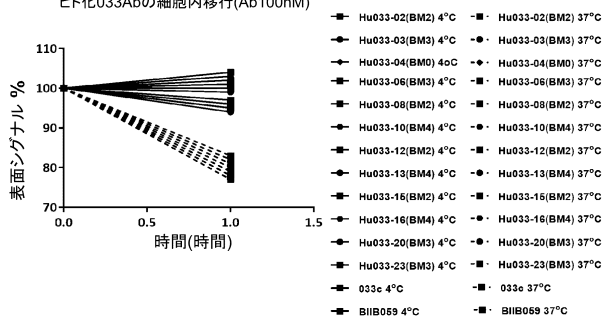


【図４－２】

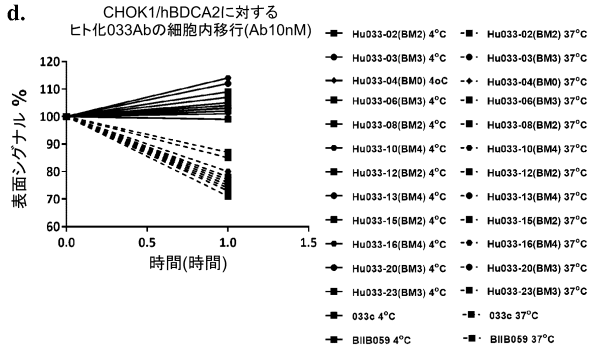
b. CHOK1/hBDCA2に対するAbの細胞内移行
(Ab 10nM)



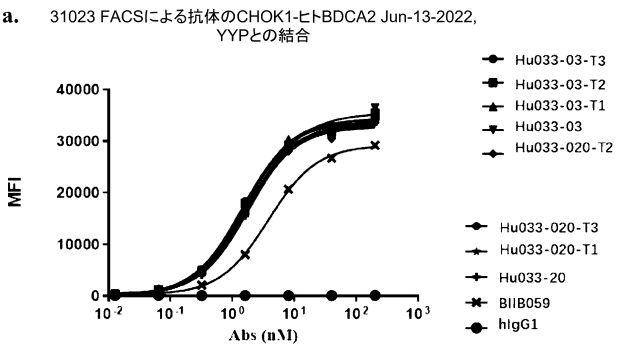
c. CHOK1/hBDCA2に対する
ヒト化033Abの細胞内移行(Ab100nM)



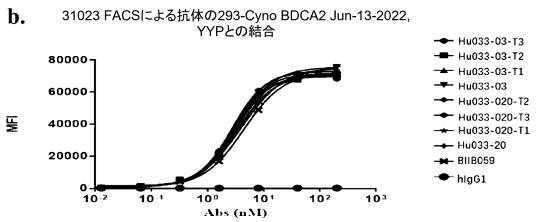
【図４－３】



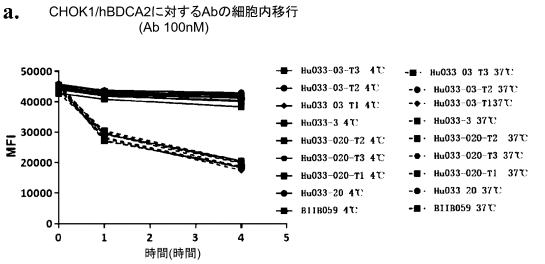
【図５－１】

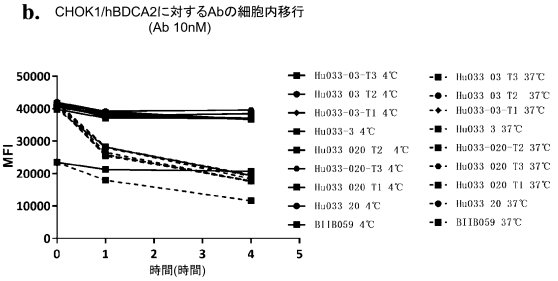


【図５－２】

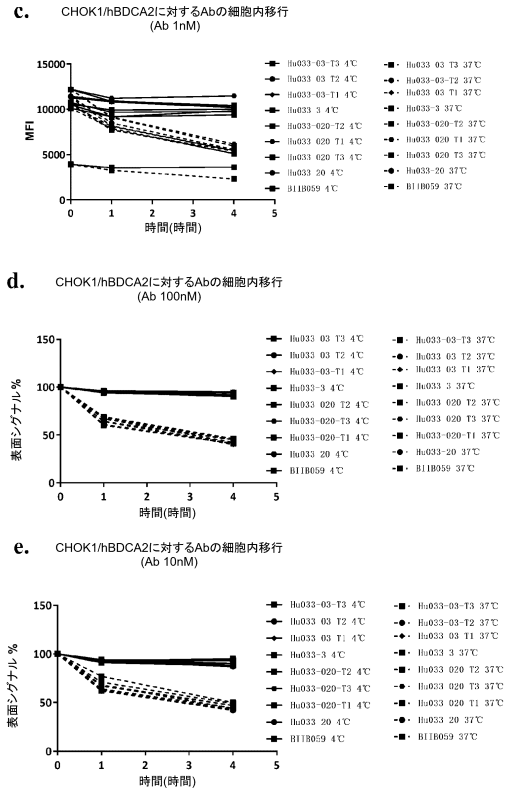


【図６－１】

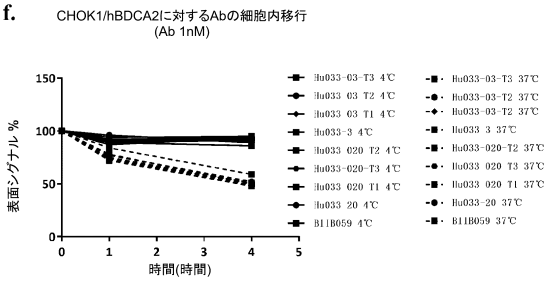




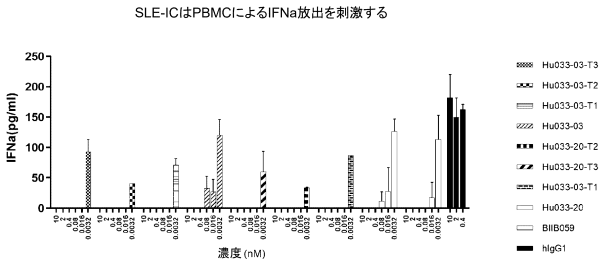
【図６－２】



【図６－３】



【図７】



【配列表】

2025518061000001.xml

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/CN2023/096076

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C07K16/28(2006.01)i; C12N15/13(2006.01)i; C12N15/63(2006.01)i; A61K39/395(2006.01)i; A61P3/10(2006.01)i; A61P37/02(2006.01)i; A61P29/00(2006.01)i; A61P19/02(2006.01)i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC: C07K, C12N, A61K, A61P

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

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

CNABS, CNTXT, DWPI, ENTXT, ENTXTC, OETXT, VEN, VCN, WPABS, WPABSC, CNKI, 万方资源数据库, WANFANG RESOURCE DATABASE, Web of Science, Pubmed and keywords: BDCA2, 血液树突状细胞抗原2, 抗体, antibody; 中国专利生物序列检索系统, China Patent Biological Sequence Search System, STN, Genbank, EMBL and searched sequences: SEQ ID NOs: 11-13, 14-16.

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	CN 105452295 A (BIOGEN MA INC.) 30 March 2016 (2016-03-30) claims 1-38	1-16 (in part), 18-20 (in part)
A	CN 109475623 A (BIOGEN MA INC.) 15 March 2019 (2019-03-15) claims 1-129	1-16 (in part), 18-20 (in part)
A	US 2020283499 A1 (MILTENYI BIOTEC GMBH) 10 September 2020 (2020-09-10) claims 1-28	1-16 (in part), 18-20 (in part)
A	CN 111961134 A (BIOGEN MA INC.) 20 November 2020 (2020-11-20) claims 1-14	1-16 (in part), 18-20 (in part)
A	US 2020353003 A1 (MILTENYI BIOTEC B.V. & CO. KG) 12 November 2020 (2020-11-12) claims 1-15	1-16 (in part), 18-20 (in part)

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

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

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
30 August 2023	**10 September 2023**
Name and mailing address of the ISA/CN **China National Intellectual Property Administration (ISA/CN)** **China No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao, Haidian District, Beijing 100088**	Authorized officer Telephone No.

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 2022)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/CN2023/096076

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

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:
   a. ☑ forming part of the international application as filed.
   b. ☐ furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search (Rule 13*ter*.1(a)),
      ☐ accompanied by a statement to the effect that the sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed.

2. ☐ With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, this report has been established to the extent that a meaningful search could be carried out without a WIPO Standard ST.26 compliant sequence listing.

3. Additional comments:

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/CN2023/096076

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

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

1. ☑ Claims Nos.: **17**
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

PCT Rule 39.1(iv) – methods for treatment of the human or animal body by surgery or therapy.

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

3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

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

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

Invention 1: Claims 1-16 (in part) and 18-20 (in part) relate to an anti-BDCA2 antibody or an antigen-binding fragment thereof, and a corresponding polynucleotide, vector, host cell, preparation method, immunoconjugate, pharmaceutical composition, pharmaceutical use, kit and detection method, wherein the antibody or the fragment thereof comprises VH CDR1-3 as shown in SEQ ID NOs. 11-13 and VL CDR1-3 as shown in SEQ ID NOs. 14-16, or VH CDR1-3 respectively having 1, 2 or 3 amino acid difference(s) with the amino acid sequences shown in SEQ ID NOs. 11-13 and VL CDR1-3 respectively having 1, 2 or 3 amino acid difference(s) with the amino acid sequences shown in SEQ ID NOs. 14-16.

Invention 2: Claims 1-16 (in part) and 18-20 (in part) relate to an anti-BDCA2 antibody or an antigen-binding fragment thereof, and a corresponding polynucleotide, vector, host cell, preparation method, immunoconjugate, pharmaceutical composition, pharmaceutical use, kit and detection method, wherein the antibody or the fragment thereof comprises VH CDR1-3 as shown in SEQ ID NOs. 19-21 and VL CDR1-3 as shown in SEQ ID NOs. 22-24, or VH CDR1-3 respectively having 1, 2 or 3 amino acid difference(s) with the amino acid sequences shown in SEQ ID NOs. 19-21 and VL CDR1-3 respectively having 1, 2 or 3 amino acid difference(s) with the amino acid sequences shown in SEQ ID NOs. 22-24.

Invention 3: Claims 1-16 (in part) and 18-20 (in part) relate to an anti-BDCA2 antibody or an antigen-binding fragment thereof, and a corresponding polynucleotide, vector, host cell, preparation method, immunoconjugate, pharmaceutical composition, pharmaceutical use, kit and detection method, wherein the antibody or the fragment thereof comprises VH CDR1-3 as shown in SEQ ID NOs. 25-27 and VL CDR1-3 as shown in SEQ ID NOs. 28-30, or VH CDR1-3 respectively having 1, 2 or 3 amino acid difference(s) with the amino acid sequences shown in SEQ ID NOs. 25-27 and VL CDR1-3 respectively having 1, 2 or 3 amino acid difference(s) with the amino acid sequences shown in SEQ ID NOs. 28-30.

Invention 4: Claims 1-16 (in part) and 18-20 (in part) relate to an anti-BDCA2 antibody or an antigen-binding fragment thereof, and a corresponding polynucleotide, vector, host cell, preparation method, immunoconjugate, pharmaceutical composition, pharmaceutical use, kit and detection method, wherein the antibody or the fragment thereof comprises VH CDR1-3 as shown in SEQ ID NOs. 31-33 and VL CDR1-3 as shown in SEQ ID NOs. 34-36, or VH CDR1-3 respectively having 1, 2 or 3 amino acid difference(s) with the amino acid sequences shown in SEQ ID NOs. 31-33 and VL CDR1-3 respectively having 1, 2 or 3 amino acid difference(s) with the amino acid sequences shown in SEQ ID NOs. 34-36.

Invention 5: Claims 1-16 (in part) and 18-20 (in part) relate to an anti-BDCA2 antibody or an antigen-binding fragment thereof, and a corresponding polynucleotide, vector, host cell, preparation method, immunoconjugate, pharmaceutical composition, pharmaceutical use, kit and detection method, wherein the antibody or the fragment thereof comprises VH CDR1-3 as shown in SEQ ID NOs. 38-40 and VL CDR1-3 as shown in SEQ ID NOs. 41, 15

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/CN2023/096076

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

and 42, or VH CDR1-3 respectively having 1, 2 or 3 amino acid difference(s) with the amino acid sequences shown in SEQ ID NOs. 38-40 and VL CDR1-3 respectively having 1, 2 or 3 amino acid difference(s) with the amino acid sequences shown in SEQ ID NOs. 41, 15 and 42.

Invention 6: Claims 1-16 (in part) and 18-20 (in part) relate to an anti-BDCA2 antibody or an antigen-binding fragment thereof, and a corresponding polynucleotide, vector, host cell, preparation method, immunoconjugate, pharmaceutical composition, pharmaceutical use, kit and detection method, wherein the antibody or the fragment thereof comprises VH CDR1-3 as shown in SEQ ID NOs. 31, 46 and 47 and VL CDR1-3 as shown in SEQ ID NOs. 34, 48 and 49, or VH CDR1-3 respectively having 1, 2 or 3 amino acid difference(s) with the amino acid sequences shown in SEQ ID NOs. 31, 46 and 47 and VL CDR1-3 respectively having 1, 2 or 3 amino acid difference(s) with the amino acid sequences shown in SEQ ID NOs. 34, 48 and 49.

Invention 7: Claims 1-16 (in part) and 18-20 (in part) relate to an anti-BDCA2 antibody or an antigen-binding fragment thereof, and a corresponding polynucleotide, vector, host cell, preparation method, immunoconjugate, pharmaceutical composition, pharmaceutical use, kit and detection method, wherein the antibody or the fragment thereof comprises VH CDR1-3 as shown in SEQ ID NOs. 31, 50 and 47 and VL CDR1-3 as shown in SEQ ID NOs. 34, 51 and 49, or VH CDR1-3 respectively having 1, 2 or 3 amino acid difference(s) with the amino acid sequences shown in SEQ ID NOs. 31, 50 and 47 and VL CDR1-3 respectively having 1, 2 or 3 amino acid difference(s) with the amino acid sequences shown in SEQ ID NOs. 34, 51 and 49.

Invention 8: Claims 1-16 (in part) and 18-20 (in part) relate to an anti-BDCA2 antibody or an antigen-binding fragment thereof, and a corresponding polynucleotide, vector, host cell, preparation method, immunoconjugate, pharmaceutical composition, pharmaceutical use, kit and detection method, wherein the antibody or the fragment thereof comprises VH CDR1-3 as shown in SEQ ID NOs. 52, 39 and 53 and VL CDR1-3 as shown in SEQ ID NOs. 54, 55 and 42, or VH CDR1-3 respectively having 1, 2 or 3 amino acid difference(s) with the amino acid sequences shown in SEQ ID NOs. 52, 39 and 53 and VL CDR1-3 respectively having 1, 2 or 3 amino acid difference(s) with the amino acid sequences shown in SEQ ID NOs. 54, 55 and 42.

Invention 9: Claims 1-16 (in part) and 18-20 (in part) relate to an anti-BDCA2 antibody or an antigen-binding fragment thereof, and a corresponding polynucleotide, vector, host cell, preparation method, immunoconjugate, pharmaceutical composition, pharmaceutical use, kit and detection method, wherein the antibody or the fragment thereof comprises VH CDR1-3 as shown in SEQ ID NOs. 25, 26 and 37 and VL CDR1-3 as shown in SEQ ID NOs. 86, 15 and 16, or VH CDR1-3 respectively having 1, 2 or 3 amino acid difference(s) with the amino acid sequences shown in SEQ ID NOs. 25, 26 and 37 and VL CDR1-3 respectively having 1, 2 or 3 amino acid difference(s) with the amino acid sequences shown in SEQ ID NOs. 86, 15 and 16.

The same or corresponding technical feature among the nine inventions is an anti-BDCA2 antibody. However, the prior art, such as CN 105452295 A (publication date: 30 March 2016), discloses an antibody against BDCA2 and an antibody fragment. Therefore, the same or corresponding technical feature is disclosed in the prior art, is no longer a technical feature that contributes to the prior art, and thus cannot be used as a special technical feature. Therefore, the technical solutions of the nine inventions of the present application do not belong to a single general inventive concept due to the lack of a same and corresponding special technical feature, and thus claims 1-20 do not comply with the requirement of unity of invention (PCT Rule 13.1).

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/CN2023/096076

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

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

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

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

4. ☑ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.: **Invention 1: 1-16 (in part), 18-20 (in part)**

Remark on Protest

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

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

☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/CN2023/096076

Patent document cited in search report	Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)	Publication date (day/month/year)
CN 105452295 A	30 March 2016	EP 3686218 A1	29 July 2020
		JP 2019146567 A	05 September 2019
		JP 6889741 B2	18 June 2021
		CA 2893375 A1	19 June 2014
		NZ 708033 A	27 March 2020
		HUE 047874 T2	28 May 2020
		AU 2013359419 A1	04 June 2015
		AU 2013359419 B2	15 March 2018
		HK 1216027 A1	07 October 2016
		JP 2016505556 A	25 February 2016
		JP 6490591 B2	27 March 2019
		LT 2928923 T	25 February 2020
		IL 238804 A0	30 June 2015
		IL 238804 B	31 August 2021
		KR 20150094658 A	19 August 2015
		EA 201591113 A1	30 September 2015
		EA 034757 B1	17 March 2020
		WO 2014093396 A1	19 June 2014
		BR 112015012942 A2	12 September 2017
		KR 20200130468 A	18 November 2020
		KR 102344907 B1	28 December 2021
		ZA 201503881 B	28 November 2018
		US 2015299325 A1	22 October 2015
		US 9902775 B2	27 February 2018
		DK 2928923 T3	17 February 2020
		PL 2928923 T3	16 November 2020
		MX 2015007034 A	11 February 2016
		MX 363407 B	22 March 2019
		HRP 20200174 T1	29 May 2020
		US 2018362652 A1	20 December 2018
		JP 2021130677 A	09 September 2021
		IL 285475 A	30 September 2021
		RS 60084 B1	29 May 2020
		EP 2928923 A1	14 October 2015
		EP 2928923 B1	22 January 2020
		ES 2780398 T3	25 August 2020
		PT 2928923 T	27 March 2020
		SI 2928923 T1	31 March 2020
CN 109475623 A	15 March 2019	JP 2019520316 A	18 July 2019
		JP 7045327 B2	31 March 2022
		EA 201892443 A1	30 April 2019
		WO 2017189827 A1	02 November 2017
		JP 2022084782 A	07 June 2022
		AU 2017258191 A1	15 November 2018
		BR 112018072125 A2	19 March 2019
		US 2019284281 A1	19 September 2019
		CO 2018012506 A2	14 December 2018
		KR 20220028150 A	08 March 2022
		KR 20190002563 A	08 January 2019
		KR 102366547 B1	23 February 2022

Form PCT/ISA/210 (patent family annex) (July 2022)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/CN2023/096076

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
				IL	262514	A	31 December 2018
				MA	44763	A	06 March 2019
				CA	3022116	A1	02 November 2017
				EP	3448425	A1	06 March 2019
				PH	12018502278	A1	09 September 2019
				MX	2018012945	A	06 March 2019
US	2020283499	A1	10 September 2020	US	7030228	B1	18 April 2006
				US	2012276065	A1	01 November 2012
				US	2006233840	A1	19 October 2006
				US	8183039	B2	22 May 2012
				US	2012276556	A1	01 November 2012
				US	10407486	B2	10 September 2019
				US	2012277413	A1	01 November 2012
CN	111961134	A	20 November 2020	None			
US	2020353003	A1	12 November 2020	US	11701387	B2	18 July 2023
				WO	2019134950	A1	11 July 2019
				EP	3735425	A1	11 November 2020

Form PCT/ISA/210 (patent family annex) (July 2022)

国际检索报告

国际申请号
PCT/CN2023/096076

A. 主题的分类

C07K16/28(2006.01)i; C12N15/13(2006.01)i; C12N15/63(2006.01)i; A61K39/395(2006.01)i; A61P3/10(2006.01)i; A61P37/02(2006.01)i; A61P29/00(2006.01)i; A61P19/02(2006.01)i

按照国际专利分类(IPC)或者同时按照国家分类和IPC两种分类

B. 检索领域

检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号)

IPC: C07K, C12N, A61K, A61P

包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献

在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称，和使用的检索词（如使用）)

CNABS, CNTXT, DWPI, ENTXT, ENTXTC, OETXT, VEN, VCN, WPABS, WPABSC, CNKI, 万方资源数据库, Web of Science, Pubmed和关键词：BDCA2、血液树突状细胞抗原2、抗体、antibody; 中国专利生物序列检索系统, STN, Genbank, EMBL和检索的序列：SEQ ID NO：11-13、14-16。

C. 相关文件

类 型*	引用文件，必要时，指明相关段落	相关的权利要求
A	CN 105452295 A (比奥根MA公司) 2016年3月30日 (2016-03-30) 权利要求1-38	1-16（部分）， 18-20（部分）
A	CN 109475623 A (比奥根MA公司) 2019年3月15日 (2019-03-15) 权利要求1-129	1-16（部分）， 18-20（部分）
A	US 2020283499 A1 (MILTENYI BIOTEC GMBH) 2020年9月10日 (2020-09-10) 权利要求1-28	1-16（部分）， 18-20（部分）
A	CN 111961134 A (比奥根MA公司) 2020年11月20日 (2020-11-20) 权利要求1-14	1-16（部分）， 18-20（部分）
A	US 2020353003 A1 (MILTENYI BIOTEC BV & CO KG) 2020年11月12日 (2020-11-12) 权利要求1-15	1-16（部分）， 18-20（部分）

☐ 其余文件在C栏的续页中列出。

☑ 见同族专利附件。

* 引用文件的具体类型：
"A" 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件
"D" 申请人在国际申请中引证的文件
"E" 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利
"L" 可能对优先权要求构成怀疑的文件，或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件（如具体说明的）
"O" 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件
"P" 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件

"T" 在申请日或优先权日之后公布，与申请不相抵触，但为了理解发明之理论或原理的在后文件
"X" 特别相关的文件，单独考虑该文件，认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性
"Y" 特别相关的文件，当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时，要求保护的发明不具有创造性
"&" 同族专利的文件

国际检索实际完成的日期	国际检索报告邮寄日期
2023年8月30日	2023年9月10日
ISA/CN的名称和邮寄地址 中国国家知识产权局 中国北京市海淀区蓟门桥西土城路6号 100088	受权官员 李颖 电话号码 (+86) 010-62412262

PCT/ISA/210 表(第2页) (2022年7月)

国际检索报告

国际申请号
PCT/CN2023/096076

第I栏 核苷酸和/或氨基酸序列(续第1页第1.c项)

1. 关于国际申请中所公开的任何核苷酸和/或氨基酸序列,国际检索是基于下列序列表进行的:

a. ☑ 作为国际申请的一部分提交的;
b. ☐ 为国际检索的目的在国际申请日之后提交(细则13之三.1(a)),
☐ 附有说明序列表不超出所提交国际申请公开范围的声明。

2. ☐ 本报告是在没有收到符合WIPO ST.26标准的序列表的情况下,考虑了国际申请中披露的任何核苷酸和/或氨基酸序列,在可进行有意义检索的范围内做出的。

3. 补充意见:

国际检索报告

国际申请号
PCT/CN2023/096076

第II栏 某些权利要求被认为是不能检索的意见(续第1页第2项)

根据条约第17条(2)(a)，对某些权利要求未做国际检索报告的理由如下：

1. ☑ 权利要求： 17
因为它们涉及不要求本单位进行检索的主题，即：
PCT细则39.1（iv）——处置人体或者动物体的外科手术方法或治疗方法。

2. ☐ 权利要求：
因为它们涉及国际申请中不符合规定的要求的部分，以致不能进行任何有意义的国际检索， 具体地说：

3. ☐ 权利要求：
因为它们是从属权利要求，并且没有按照细则6.4(a)第2句和第3句的要求撰写。

第III栏 缺乏发明单一性的意见(续第1页第3项)

本国际检索单位在该国际申请中发现多项发明，即：

发明1：权利要求1-16（部分），18-20（部分），涉及一种抗BDCA2抗体或其抗原结合片段、相应的多核苷酸、载体、宿主细胞、制备方法、免疫缀合物、药物组合物、制药用途、试剂盒、检测方法，所述抗体或其片段包括如SEQ ID NO.11-13所示的VH CDR1-3和如SEQ ID NO.14-16所示的VL CDR1-3，或与SEQ ID NO.11-13所示的氨基酸序列分别具有1、2或3个氨基酸差异的VH CDR1-3和与SEQ ID NO.14-16所示的氨基酸序列分别具有1、2或3个氨基酸差异的VL CDR1-3。

发明2：权利要求1-16（部分），18-20（部分），涉及一种抗BDCA2抗体或其抗原结合片段、相应的多核苷酸、载体、宿主细胞、制备方法、免疫缀合物、药物组合物、制药用途、试剂盒、检测方法，所述抗体或其片段包括如SEQ ID NO.19-21所示的VH CDR1-3和如SEQ ID NO.22-24所示的VL CDR1-3，或与SEQ ID NO.19-21所示的氨基酸序列分别具有1、2或3个氨基酸差异的VH CDR1-3和与SEQ ID NO.22-24所示的氨基酸序列分别具有1、2或3个氨基酸差异的VL CDR1-3。

发明3：权利要求1-16（部分），18-20（部分），涉及一种抗BDCA2抗体或其抗原结合片段、相应的多核苷酸、载体、宿主细胞、制备方法、免疫缀合物、药物组合物、制药用途、试剂盒、检测方法，所述抗体或其片段包括如SEQ ID NO.25-27所示的VH CDR1-3和如SEQ ID NO.28-30所示的VL CDR1-3，或与SEQ ID NO.25-27所示的氨基酸序列分别具有1、2或3个氨基酸差异的VH CDR1-3和与SEQ ID NO.28-30所示的氨基酸序列分别具有1、2或3个氨基酸差异的VL CDR1-3。

发明4：权利要求1-16（部分），18-20（部分），涉及一种抗BDCA2抗体或其抗原结合片段、相应的多核苷酸、载体、宿主细胞、制备方法、免疫缀合物、药物组合物、制药用途、试剂盒、检测方法，所述抗体或其片段包括如SEQ ID NO.31-33所示的VH CDR1-3和如SEQ ID NO.34-36所示的VL CDR1-3，或与SEQ ID NO.31-33所示的氨基酸序列分别具有1、2或3个氨基酸差异的VH CDR1-3和与SEQ ID NO.34-36所示的氨基酸序列分别具有1、2或3个氨基酸差异的VL CDR1-3。

发明5：权利要求1-16（部分），18-20（部分），涉及一种抗BDCA2抗体或其抗原结合片段、相应的多核苷酸、载体、宿主细胞、制备方法、免疫缀合物、药物组合物、制药用途、试剂盒、检测方法，所述抗体或其片段包括如SEQ ID NO.38-40所示的VH CDR1-3和如SEQ ID NO.41、15、42所示的VL CDR1-3，或与SEQ ID NO.38-40所示的氨基酸序列分别具有1、2或3个氨基酸差异的VH CDR1-3和与SEQ ID NO.41、15、42所示的氨基酸序列分别具有1、2或3个氨基酸差异的VL CDR1-3。

发明6：权利要求1-16（部分），18-20（部分），涉及一种抗BDCA2抗体或其抗原结合片段、相应的多核苷酸、载体、宿主细胞、制备方法、免疫缀合物、药物组合物、制药用途、试剂盒、检测方法，所述抗体或其片段包括如SEQ ID NO.31、46、47所示的VH CDR1-3和如SEQ ID NO.34、48、49所示的VL CDR1-3，或与SEQ ID NO.31、46、47所示的氨基酸序列分别具有1、2或3个氨基酸差异的VH CDR1-3和与SEQ ID NO.34、48、49所示的氨基酸序列分别具有1、2或3个氨基酸差异的VL CDR1-3。

国际检索报告

国际申请号
PCT/CN2023/096076

第III栏 缺乏发明单一性的意见(续第1页第3项)

发明7：权利要求1-16（部分），18-20（部分），涉及一种抗BDCA2抗体或其抗原结合片段、相应的多核苷酸、载体、宿主细胞、制备方法、免疫缀合物、药物组合物、制药用途、试剂盒、检测方法，所述抗体或其片段包括如SEQ ID NO.31、50、47所示的VH CDR1-3和如SEQ ID NO.34、51、49所示的VL CDR1-3，或与SEQ ID NO.31、50、47所示的氨基酸序列分别具有1、2或3个氨基酸差异的VH CDR1-3和与SEQ ID NO.34、51、49所示的氨基酸序列分别具有1、2或3个氨基酸差异的VL CDR1-3。

发明8：权利要求1-16（部分），18-20（部分），涉及一种抗BDCA2抗体或其抗原结合片段、相应的多核苷酸、载体、宿主细胞、制备方法、免疫缀合物、药物组合物、制药用途、试剂盒、检测方法，所述抗体或其片段包括如SEQ ID NO.52、39、53所示的VH CDR1-3和如SEQ ID NO.54、55、42所示的VL CDR1-3，或与SEQ ID NO.52、39、53所示的氨基酸序列分别具有1、2或3个氨基酸差异的VH CDR1-3和与SEQ ID NO.54、55、42所示的氨基酸序列分别具有1、2或3个氨基酸差异的VL CDR1-3。

发明9：权利要求1-16（部分），18-20（部分），涉及一种抗BDCA2抗体或其抗原结合片段、相应的多核苷酸、载体、宿主细胞、制备方法、免疫缀合物、药物组合物、制药用途、试剂盒、检测方法，所述抗体或其片段包括如SEQ ID NO.25、26、37所示的VH CDR1-3和如SEQ ID NO.86、15、16所示的VL CDR1-3，或与SEQ ID NO.25、26、37所示的氨基酸序列分别具有1、2或3个氨基酸差异的VH CDR1-3和与SEQ ID NO.86、15、16所示的氨基酸序列分别具有1、2或3个氨基酸差异的VL CDR1-3。

上述9项发明间相同或相应的技术特征为抗BDCA2抗体。然而现有技术，如CN105452295A（公开日为2016年3月30日）已经公开了抗BDCA2的抗体和抗体片段。因此上述相同或相应的技术特征已经被现有技术公开，不再是对现有技术做出贡献的技术特征，也就不能作为特定技术特征，因此本申请9项发明的技术方案之间由于缺乏相同和相应的特定技术特征而不属于一个总的发明构思，权利要求1-20不符合专利法第三十一条第一款有关单一性的规定。

1. ☐ 由于申请人按时缴纳了被要求缴纳的全部附加检索费，本国际检索报告涉及全部可作检索的权利要求。

2. ☐ 由于无需付出有理由要求附加费的劳动即能对全部可检索的权利要求进行检索，本单位未通知缴纳任何加费。

3. ☐ 由于申请人仅按时缴纳了部分被要求缴纳的附加检索费，本国际检索报告仅涉及已缴费的那些权利要求，具体地说，是权利要求：

4. ☑ 申请人未按时缴纳被要求缴纳的附加检索费。因此，本国际检索报告仅涉及权利要求书中首先提及的发明；包含该发明的权利要求是： 发明1：1-16（部分），18-20（部分）

对异议的意见

☐ 申请人缴纳了附加检索费，同时提交了异议书，适用时，缴纳了异议费。

☐ 申请人缴纳了附加检索费，同时提交了异议书，但未在通知书规定的时间期限内缴纳异议费。

☐ 缴纳附加检索费时未提交异议书。

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号
PCT/CN2023/096076

检索报告引用的专利文件			公布日（年/月/日）	同族专利			公布日（年/月/日）
CN	105452295	A	2016年3月30日	EP	3686218	A1	2020年7月29日
				JP	2019146567	A	2019年9月5日
				JP	6889741	B2	2021年6月18日
				CA	2893375	A1	2014年6月19日
				NZ	708033	A	2020年3月27日
				HUE	047874	T2	2020年5月28日
				AU	2013359419	A1	2015年6月4日
				AU	2013359419	B2	2018年3月15日
				HK	1216027	A1	2016年10月7日
				JP	2016505556	A	2016年2月25日
				JP	6490591	B2	2019年3月27日
				LT	2928923	T	2020年2月25日
				IL	238804	A0	2015年6月30日
				IL	238804	B	2021年8月31日
				KR	20150094658	A	2015年8月19日
				EA	201591113	A1	2015年9月30日
				EA	034757	B1	2020年3月17日
				WO	2014093396	A1	2014年6月19日
				BR	112015012942	A2	2017年9月12日
				KR	20200130468	A	2020年11月18日
				KR	102344907	B1	2021年12月28日
				ZA	201503881	B	2018年11月28日
				US	2015299325	A1	2015年10月22日
				US	9902775	B2	2018年2月27日
				DK	2928923	T3	2020年2月17日
				PL	2928923	T3	2020年11月16日
				MX	2015007034	A	2016年2月11日
				MX	363407	B	2019年3月22日
				HRP	20200174	T1	2020年5月29日
				US	2018362652	A1	2018年12月20日
				JP	2021130677	A	2021年9月9日
				IL	285475	A	2021年9月30日
				RS	60084	B1	2020年5月29日
				EP	2928923	A1	2015年10月14日
				EP	2928923	B1	2020年1月22日
				ES	2780398	T3	2020年8月25日
				PT	2928923	T	2020年3月27日
				SI	2928923	T1	2020年3月31日
CN	109475623	A	2019年3月15日	JP	2019520316	A	2019年7月18日
				JP	7045327	B2	2022年3月31日
				EA	201892443	A1	2019年4月30日
				WO	2017189827	A1	2017年11月2日
				JP	2022084782	A	2022年6月7日
				AU	2017258191	A1	2018年11月15日
				BR	112018072125	A2	2019年3月19日
				US	2019284281	A1	2019年9月19日
				CO	2018012506	A2	2018年12月14日
				KR	20220028150	A	2022年3月8日
				KR	20190002563	A	2019年1月8日
				KR	102366547	B1	2022年2月23日

PCT/ISA/210 表(同族专利附件) (2022年7月)

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号
PCT/CN2023/096076

检索报告引用的专利文件			公布日（年/月/日）	同族专利			公布日（年/月/日）
				IL	262514	A	2018年12月31日
				MA	44763	A	2019年3月6日
				CA	3022116	A1	2017年11月2日
				EP	3448425	A1	2019年3月6日
				PH	12018502278	A1	2019年9月9日
				MX	2018012945	A	2019年3月6日
US	2020283499	A1	2020年9月10日	US	7030228	B1	2006年4月18日
				US	2012276065	A1	2012年11月1日
				US	2006233840	A1	2006年10月19日
				US	8183039	B2	2012年5月22日
				US	2012276556	A1	2012年11月1日
				US	10407486	B2	2019年9月10日
				US	2012277413	A1	2012年11月1日
CN	111961134	A	2020年11月20日		无		
US	2020353003	A1	2020年11月12日	US	11701387	B2	2023年7月18日
				WO	2019134950	A1	2019年7月11日
				EP	3735425	A1	2020年11月11日

フロントページの続き

(51)国際特許分類		FI			テーマコード（参考）
C12N 1/19 (2006.01)		C12N	1/19		4H045
C12N 5/10 (2006.01)		C12N	5/10		
C07K 16/46 (2006.01)		C07K	16/46		
C12P 21/08 (2006.01)		C12P	21/08		
C07K 1/18 (2006.01)		C07K	1/18		
C07K 1/20 (2006.01)		C07K	1/20		
C07K 1/22 (2006.01)		C07K	1/22		
C12Q 1/02 (2006.01)		C12Q	1/02		
A61K 39/395 (2006.01)		A61K	39/395	N	
A61K 47/68 (2017.01)		A61K	47/68		
A61P 29/00 (2006.01)		A61P	29/00		
A61P 37/02 (2006.01)		A61P	37/02		
A61P 13/12 (2006.01)		A61P	13/12		
A61P 17/00 (2006.01)		A61P	17/00		
A61P 19/02 (2006.01)		A61P	19/02		
A61P 1/04 (2006.01)		A61P	1/04		
A61P 17/06 (2006.01)		A61P	17/06		
A61P 3/10 (2006.01)		A61P	3/10		
A61P 21/00 (2006.01)		A61P	21/00		
G01N 33/53 (2006.01)		G01N	33/53	D	
		G01N	33/53	Y	

,NA,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,ME,MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,RS,SE,SI,SK,SM,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,KM,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,CV,CZ,DE,DJ,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IQ,IR,IS,IT,JM,JO,JP,KE,KG,KH,KN,KP,KR,KW,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LU,LY,MA,MD,MG,MK,MN,MU,MW,MX,MY,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,RU,RW,SA,SC,SC,SD,SE,SG,SK,SL,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,WS,ZA,ZM,ZW

(72)発明者 フア，ハイチン
中華人民共和国 ２０１２０４ シャンハイ，プドン ニュー エリア，インフア ロード ８６８，ユニット １１０６
(72)発明者 ジュー，ジョンユエン
中華人民共和国 ２０１２０４ シャンハイ，プドン ニュー エリア，インフア ロード ８６８，ユニット １１０６
(72)発明者 リー，ジエン
中華人民共和国 ２０１２０４ シャンハイ，プドン ニュー エリア，インフア ロード ８６８，ユニット １１０６

Ｆターム（参考）
4B063 QA01 QA19 QQ08 QR48 QR77 QS33
4B064 AG27 CA05 CA06 CA08 CA10 CA19 CC24 CE11 CE12 CE14 DA01 DA13
4B065 AA57X AA57Y AA72X AA72Y AA83X AA83Y AA90X AA90Y AB01 AC14 BA02 CA44 CA46
4C076 AA95 CC04 CC07 CC41 EE41 EE59 FF70
4C085 AA14 AA25 EE01
4H045 AA10 AA20 AA30 BA09 BA41 CA40 DA76 EA20 EA50 FA74 GA22 GA23 GA25 GA26 GA30