

(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関  
国際事務局

(43) 国際公開日  
2014年9月18日(18.09.2014)



(10) 国際公開番号  
WO 2014/142117 A1

- (51) 国際特許分類:  
*C07K 16/12* (2006.01) *C12N 1/21* (2006.01)  
*A61K 39/395* (2006.01) *C12N 5/10* (2006.01)  
*A61P 31/04* (2006.01) *C12N 15/02* (2006.01)  
*C12N 1/15* (2006.01) *C12N 15/09* (2006.01)  
*C12N 1/19* (2006.01) *C12P 21/08* (2006.01)
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2014/056324
- (22) 国際出願日: 2014年3月11日(11.03.2014)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ:  
特願 2013-049268 2013年3月12日(12.03.2013) JP
- (71) 出願人: 全薬工業株式会社 (ZENYAKU KOGYO KABUSHIKIKAI) [JP/JP]; 〒1128650 東京都文京区大塚五丁目6番15号 Tokyo (JP). 学校法人順天堂 (JUNTENDO EDUCATIONAL FOUNDATION) [JP/JP]; 〒1138421 東京都文京区本郷2-1-1 Tokyo (JP).
- (72) 発明者: 大澤 弘宜 (OHSAWA Hiroyoshi); 〒1780062 東京都練馬区大泉町2丁目3番3号 全薬工業株式会社中央研究所内 Tokyo (JP). 榎並 淳平 (ENAMI Jumpei); 〒1780062 東京都練馬区大泉町2丁目3番3号 全薬工業株式会社中央研究所内 Tokyo (JP). 平松 啓一 (HIRAMATSU Keiichi); 〒1138421 東京都文京区本郷2丁目1番1号 学校法人順天堂 順天堂大学細菌学講座内 Tokyo (JP).
- (74) 代理人: 園田 吉隆, 外 (SONODA Yoshitaka et al.); 〒1630434 東京都新宿区西新宿二丁目1番1号 新宿三井ビル34階 園田・小林特許事務所 Tokyo (JP).
- (81) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.
- (84) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーロパ (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).
- 添付公開書類:  
— 国際調査報告 (条約第21条(3))  
— 明細書の別個の部分として表した配列リスト (規則 5.2(a))



WO 2014/142117 A1

(54) Title: ANTI-STAPHYLOCOCCUS ANTIBODY, METHOD FOR MANUFACTURING SAME, AND USAGE OF SAME

(54) 発明の名称: 抗ブドウ球菌抗体、その製造方法並びにその使用

(57) Abstract: [Problem] The present invention addresses the problem of providing an anti-Staphylococcus antibody having preventive or therapeutic effects on staphylococcal infections. [Solution] Provided is an anti-Staphylococcus antibody having preventive or therapeutic effects on staphylococcal infections and a method for manufacturing said antibody, as well as a composition, a product, and a drug containing said antibody. The antibody is obtained by using deacetylated Staphylococcus for immunization.

(57) 要約: 【課題】ブドウ球菌感染症の治療または予防効果を有する抗ブドウ球菌抗体を提供することを課題とする。【解決手段】脱アセチル化したブドウ球菌を免疫して得られる、ブドウ球菌感染症の治療または予防効果を有する抗ブドウ球菌抗体、該抗体の製造方法、並びに該抗体を含む組成物、製造品及び医薬が提供される。

## 明 細 書

発明の名称：抗ブドウ球菌抗体、その製造方法並びにその使用  
技術分野

[0001] この発明は、ブドウ球菌に結合する抗体、その製造方法並びにブドウ球菌感染症に対するその使用に関する。

### 背景技術

[0002] ブドウ球菌はヒトの常在菌の一種であり、かつ、感染起因菌としても知られている。例えば、黄色ブドウ球菌は、20～30%の人が常時、50～60%の人が一時的に保菌していると言われている（非特許文献1）。食中毒や皮膚・軟部組織感染症（とびひ、蜂窩織炎等）などを除き、通常、健常者に対してはほとんど病原性を示さないが、大きな侵襲を伴う手術患者や血液透析患者、人工医療器具生体置換患者、糖尿病患者、免疫系が未熟で常在細菌叢も形成されていない超未熟児などではしばしば深刻な感染を引き起こす。

ブドウ球菌に対する抗菌剤の開発は、 $\beta$ -ラクタム系のペニシリンより始まった。しかし、ブドウ球菌は遺伝子的に薬剤耐性機構を獲得しやすく、発売数年後には早くも耐性菌が出現した。その後、アミノグリコシド系、マクロライド系、クロラムフェニコール系、テトラサイクリン系、キノロン系、ペネム系などの各抗菌剤が開発されたが、耐性菌を克服することはできなかった。そして、開発後長期に渡って耐性菌が発見されなかったグリコペプチド系抗菌剤バンコマイシンへの耐性菌がついに出現し（非特許文献2）、さらには近年数十年ぶりに新規抗菌剤として開発されたオキサゾリジン系抗菌剤への耐性菌も、発売同年には出現した（非特許文献3）。

[0003] このような大部分の抗菌剤に耐性を示す多剤耐性ブドウ球菌が出現するに至り、この中でも特に黄色ブドウ球菌は病院内感染の主要な原因菌として大きな脅威となっている。実際に、メチシリン耐性黄色ブドウ球菌（MRSA）による侵襲性感染患者は、全米で年間9万4千人に上り、この内の1万8

千人が死亡すると推定されている（非特許文献4）。そして高度医療が医療先進国以外にも普及するにつれて、黄色ブドウ球菌感染症罹患の機会と危険性はさらに高まり、今後、黄色ブドウ球菌感染症患者はますます増加することが予想される。さらには、病原性が強く、健常人が市中で感染して重篤な症状を呈する市中獲得MRSA感染症（非特許文献5）も増加している。

こうしたことから、従来の抗菌物質による治療とは異なる新たな治療戦略が強く望まれており、ワクチンや抗体による感染制御が近年研究されている。例えば、ワクチンの例として、黄色ブドウ球菌の莢膜多糖類タイプ5、8、Iron Surface Determinant Bなどが、抗体の例としてClumping factor A、ABCトランスポーター、タイコ酸に対する抗体が挙げられる。

[0004] なお、以下の非特許文献の開示内容は全て、参照により本明細書に援用される。

非特許文献1：Rebecca A. Brady, Jeff G. Leid, Anne K. Camper, J. William Costerton, and Mark E. Shirtliff (2006) *Infect. Immun.* 74: 3415-3426

非特許文献2：CDC. (2002) *MMWR* 51: 565-567

非特許文献3：Sotirios Tsiodras, Howard S. Gold, George Sakoulas, George M. Eliopoulos, Christine Wennersten, Lata Venkataraman, Robert C. Moellering Jr, and Mary Jane Ferraro (2001) *Lancet* 358: 207-208

非特許文献4：R. Monina Klevens, Melissa A. Morrison, Joelle Nadle, Susan Petit, Ken Gershman, Susan Ray, Lee H. Harrison, Ruth Lynfield, Ghinwa Dumyati, John M. Townes, Allen S. Craig, Elizabeth R. Zell, Gregory E. Fosheim, Linda K. McDougal, Roberta B. Carey, and Scott K. Fridkin (2007) *JAMA* 298: 1763-1771

非特許文献5：CDC. (1999) *MMWR* 48: 707-710

非特許文献6：Adam C. Schaffer and Jean C. Lee (2009) *Infect. Dis. Clin. North. Am.* 23: 153-171

## 発明の概要

[0005] 従来の感染制御用のワクチンや抗体は、臨床試験や前臨床試験で十分な効果が得られていないものが多い（非特許文献6）。これらの特定の莢膜成分、特定の産生毒素、特定の細胞壁結合タンパク質や菌体成分などを抗原とするワクチンあるいは抗体の臨床効果が不十分なことは、従来から行われてきた免疫法では適切なエピトープを認識する抗体を得ることが困難であることを示している。

本発明者らは、これらの課題を解決するために鋭意研究し、細胞表面の物質を脱アセチル化したブドウ球菌を抗原として用いることで新規な抗体を製することに成功した。さらに、ブドウ球菌感染症モデルに有効な特定の抗体を見出すことにも成功した。

[0006] 本発明によれば、ブドウ球菌感染症の治療または予防効果を有する抗ブドウ球菌抗体、特に抗黄色ブドウ球菌抗体が提供される。この抗体は、好ましくは、脱アセチル化したブドウ球菌を免疫して得ることができる。

また、本発明によれば、Z B I A 5 H抗体またはZ B I A 3 H抗体由来の相補性決定領域（CDR）を含む抗ブドウ球菌抗体（Z B I A 5 H系列抗体またはZ B I A 3 H系列抗体）が提供される。この抗体は、好ましくはZ B I A 5 H抗体またはZ B I A 3 H抗体と同一のCDRを含む。

また、本発明によれば、重鎖可変領域が、配列番号：1、2および3に示されるアミノ酸配列あるいは配列番号：9、10および11に示されるアミノ酸配列をそれぞれ含むCDRH1、2および3を含み、軽鎖可変領域が、配列番号：4、5および6に示されるアミノ酸配列あるいは配列番号：12、13および14に示されるアミノ酸配列をそれぞれ含むCDRL1、2および3を含む抗ブドウ球菌抗体が提供される。

また、本発明によれば、配列番号：7に示されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域と、配列番号：8に示されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域とを含む抗ブドウ球菌抗体（Z B I A 5 H系列抗体）が提供される。

また、本発明によれば、配列番号：15に示されるアミノ酸配列を含む重

鎖可変領域と、配列番号：16に示されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む抗ブドウ球菌抗体（ZBI A3H系列抗体）が提供される。

また、本発明によれば、受託番号：NITE BP-1367または受託番号：NITE BP-1366で寄託されたハイブリドーマにより産生される抗体が提供される。

これらの抗体は、好ましくは黄色ブドウ球菌と結合することができる。

また、これらの抗体は、好ましくは他のブドウ球菌（例えば、表皮ブドウ球菌、腐性ブドウ球菌、またはStaphylococcus haemolyticusなど）、特に好ましくは表皮ブドウ球菌とも結合することができる。

これらの抗体は、好ましくは、ブドウ球菌感染症の治療または予防効果を有し、さらに好ましくは、薬剤耐性ブドウ球菌感染症の治療または予防効果を有する。

[0007] さらに、本発明によれば、抗菌剤とコンジュゲートした抗ブドウ球菌抗体が提供される。

さらに、本発明によれば、抗ブドウ球菌抗体をコードする核酸、その核酸を含むベクター、並びにそのベクターを含む宿主細胞が提供される。

さらに、本発明によれば、抗ブドウ球菌抗体をコードする核酸がその抗体を発現する条件下で、宿主細胞を培養することを含むその抗体の製造方法が提供される。

[0008] さらに、本発明によれば、抗ブドウ球菌抗体を含む組成物が提供される。

さらに、本発明によれば、抗ブドウ球菌抗体を含む、ブドウ球菌感染症の治療または予防のための医薬が提供される。

さらに、本発明によれば、治療または予防対象に抗ブドウ球菌抗体または組成物を投与することを含む、ブドウ球菌感染症の治療または予防方法が提供される。

さらに、本発明によれば、ブドウ球菌感染症の治療または予防のための医薬の製造における、抗ブドウ球菌抗体または組成物の使用が提供される。

さらに、本発明によれば、ブドウ球菌感染症の治療または予防に使用する

ための抗ブドウ球菌抗体または組成物が提供される。

[0009] また、本発明によれば、Z B I A 5 H系列抗体と、他の抗ブドウ球菌抗体との併用ならびに双方の抗体を含む組成物が提供される。他の抗ブドウ球菌抗体は、好ましくはZ B I A 3 H系列抗体である。

さらに、本発明によれば、(a) 容器；(b) パッケージ挿入物および／または容器上のラベル；および(c) 前記容器内に収容された抗ブドウ球菌抗体を含む組成物を含んでなり、パッケージ挿入物および／または前記容器上のラベルの少なくとも一つの当該組成物がブドウ球菌感染症の治療または予防に使用できることを表示する製造物が提供される。

さらに、本発明によれば、脱アセチル化したブドウ球菌により哺乳動物を免疫し、該哺乳動物から抗体産生細胞を得ることを含む、抗ブドウ球菌抗体の製造方法が提供される。

この方法によれば、ブドウ球菌の脱アセチル化により様々な抗原性を賦与することができ、新規でかつ多種類の抗体を製造することができる。

[0010] なお、上記態様において、これに限られるものではないが、典型的には、临床上で重要な感染起因ブドウ球菌として、黄色ブドウ球菌が挙げられる。

### 図面の簡単な説明

[0011] [図1]脱アセチル化ブドウ球菌免疫マウス血清の黄色ブドウ球菌への抗体価を示す。

[図2]抗ブドウ球菌抗体の黄色ブドウ球菌固相化C e l l - E L I S Aにおける反応性を示す。

[図3]Z B I A 5 H抗体およびZ B I A 3 H抗体の表皮ブドウ球菌固相化C e l l - E L I S Aにおける反応性を示す。

[図4]Z B I A 5 H抗体の黄色ブドウ球菌MW 2株マウス敗血症モデルにおける有効性を示す。\*はP B S投与群へ対する生存数の有意な差（フィッシャーの正確確率検定）を示す（\*：P<0.05、\*\*：P<0.01）。#はコントロールI g G投与群へ対する生存数の有意な差（フィッシャーの正確確率検定）を示す（#：P<0.05）。

[図5] Z B I A 3 H 抗体の黄色ブドウ球菌 MW 2 株マウス敗血症モデルにおける有効性を示す。\* は P B S 投与群へ対する生存数の有意な差（フィッシャーの正確確率検定）を示す（\* :  $P < 0.05$ 、\*\* :  $P < 0.01$ ）。# はコントロール I g G 投与群へ対する生存数の有意な差（フィッシャーの正確確率検定）を示す（# :  $P < 0.05$ 、## :  $P < 0.01$ ）。

[図6] Z B I A 5 H 抗体と Z B I A 3 H 抗体とを併用した黄色ブドウ球菌 MW 2 株マウス敗血症モデルにおける有効性を示す。\* は P B S 投与群へ対する生存数の有意な差（フィッシャーの正確確率検定）を示す（\* :  $P < 0.05$ 、\*\* :  $P < 0.01$ ）。# はコントロール I g G 投与群へ対する生存数の有意な差（フィッシャーの正確確率検定）を示す（# :  $P < 0.05$ 、## :  $P < 0.01$ ）。

[図7] Z B I A 5 H および Z B I A 3 H 抗体の黄色ブドウ球菌 V R S 1 株マウス敗血症モデルにおける有効性を示す。\* は P B S 投与群へ対する生存数の有意な差（フィッシャーの正確確率検定）を示す（\* :  $P < 0.05$ ）。# は V C M 投与群へ対する生存数の有意な差（フィッシャーの正確確率検定）を示す（# :  $P < 0.05$ ）。

[図8] Z B I A 5 H 抗体の黄色ブドウ球菌 MW 2 株マウス肺炎モデルにおける予防効果を示す。一は肺感染菌数の中央値を示す。\* は P B S 投与群へ対する感染菌数の有意な差（ウイルコクソンの順位和検定）を示す（\* :  $P < 0.05$ ）。

[図9] Z B I A 3 H 抗体の黄色ブドウ球菌 MW 2 株マウス肺炎モデルにおける予防効果を示す。一は肺感染菌数の中央値を示す。\* は P B S 投与群へ対する感染菌数の有意な差（ウイルコクソンの順位和検定）を示す（\* :  $P < 0.05$ ）。

[図10] Z B I A 5 H 抗体の黄色ブドウ球菌 MW 2 株マウス肺炎モデルにおける治療効果を示す。一は肺感染菌数の中央値を示す。\* は P B S 投与群へ対する感染菌数の有意な差（ウイルコクソンの順位和検定）を示す（\* :  $P < 0.05$ 、\*\* :  $P < 0.01$ ）。

[図11] Z B I A 3 H 抗体の黄色ブドウ球菌 MW 2 株マウス肺炎モデルにおける治療効果を示す。一は肺感染菌数の中央値を示す。\* は P B S 投与群へ対する感染菌数の有意な差（ウイルコクソンの順位和検定）を示す（\* :  $P < 0.05$ 、\*\* :  $P < 0.01$ ）。

[図12] Z B I A 5 H 抗体の可変部アミノ酸番号（配列番号：7 および 8）を示す。下線部は、K a b a t の定義による相補性決定領域（C D R）である。

[図13] Z B I A 3 H 抗体の可変部アミノ酸配列（配列番号：15 および 16）を示す。下線部は、K a b a t の定義による相補性決定領域（C D R）である。

### 発明を実施するための形態

#### [0012] [用語および態様の説明]

本明細書中においては、次の用語は以下に示す意味を有し、各用語は、以下に示す各態様を表すものとする。

[0013] 「ブドウ球菌」とは、ブドウ球菌属（*Staphylococcus*属）に属するグラム陽性球菌を意味する。ブドウ球菌は、その生化学的特徴（例えば、ブドウ糖発酵性、コアグララーゼ活性）あるいは遺伝的特徴などにより、常法に従い、同定・判別することができる。ブドウ球菌種としては、これに限定されるものではないが、例えば、黄色ブドウ球菌、表皮ブドウ球菌、腐性ブドウ球菌、*Staphylococcus haemolyticus*などが挙げられる。

ブドウ球菌種の中で、臨床上重要な感染起因菌であると共に、本発明の効果が特に高い菌種として、黄色ブドウ球菌を挙げることができる。

[0014] 「黄色ブドウ球菌」とは、黄色ブドウ球菌種（*Staphylococcus aureus*種）に属するグラム陽性球菌を意味する。黄色ブドウ球菌は、その生化学的特徴（例えば、ブドウ糖発酵性、コアグララーゼ活性、色素産生能）あるいは遺伝的特徴などにより、常法に従い、同定・判別することができる。黄色ブドウ球菌の特定の株としては、これに限定されるものではないが、例えば、MW 2 株、USA 300 株、Mu 3 株、Mu 50 株、COL 株、N 315 株、V



R S 1 株などが挙げられる。

「表皮ブドウ球菌」とは、表皮ブドウ球菌種 (*Staphylococcus epidermidis*種) に属するグラム陽性球菌を意味し、「腐性ブドウ球菌」とは、腐性ブドウ球菌種 (*Staphylococcus saprophyticus*種) に属するグラム陽性球菌を意味し、「*Staphylococcus haemolyticus*」とは *Staphylococcus haemolyticus* 種に属するグラム陽性球菌を意味する。これらのブドウ球菌は、その生化学的特徴あるいは遺伝的特徴などにより、常法に従い、同定・判別することができる。

[0015] 「薬剤耐性ブドウ球菌」とは、抗菌性物質 ( $\beta$ -ラクタム系、アミノグリコシド系、マクロライド系、クロラムフェニコール系、テトラサイクリン系、キノロン系、ペネム系、グリコペプチド系、オキサゾリジン系の各種抗菌剤など) 等の薬剤に対し、耐性を獲得したブドウ球菌のことを意味し、上記薬剤への低度耐性ブドウ球菌やヘテロ耐性ブドウ球菌を含む。特に、複数の薬剤に対する耐性を獲得したブドウ球菌を、多剤耐性ブドウ球菌という。

また、「薬剤耐性黄色ブドウ球菌」には、メチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (MRSA) 並びにバンコマイシン耐性黄色ブドウ球菌 (VRSA) が含まれる。メチシリン耐性黄色ブドウ球菌の特定の株としては、これに限定されるものではないが、例えば、MW2株、N315株などが挙げられ、バンコマイシン耐性黄色ブドウ球菌としては、これに限定されるものではないが、例えば、VRS1株などが挙げられる。

[0016] 「ブドウ球菌感染症」とは、ブドウ球菌による感染症を意味する。

黄色ブドウ球菌による感染症には、これに限定されるものではないが、食中毒、皮膚／軟部組織感染症 (例えば、ニキビ、伝染性膿痂疹 (とびひ)、毛包炎、せつ (furuncle)、よう (carbuncle)、化膿性汗腺炎、乳腺炎、感染性爪囲炎、蜂窩織炎 (蜂巣炎)、化膿性筋炎、皮下膿瘍、術後創部感染症)、菌血症、敗血症、心内膜炎、髄膜炎、脳膿瘍、骨髄炎、関節炎、中毒性ショック症候群、ブドウ球菌性熱傷様皮膚症候群、感染症続発性紅皮症、リンパ節炎、眼瞼炎、麦粒腫、非淋菌性細菌性結膜炎、角膜潰瘍、鼻炎、副鼻

腔炎、下顎下腔感染症、咽頭上顎膿瘍、化膿性耳下腺炎、肺炎、肺膿瘍、膿胸、横隔膜下膿瘍、腹腔内膿瘍、骨盤膿瘍、後腹膜膿瘍、傍腎膿瘍、内臓膿瘍（脾膿瘍、膵膿瘍、肝膿瘍）、肛門直腸膿瘍、前立腺膿瘍、前立腺炎、尿道炎、膀胱炎、腎盂腎炎などが挙げられる。

表皮ブドウ球菌による感染症には、これに限定されるものではないが、特にカテーテルや心臓弁などの医療器具使用時の、皮膚／軟部組織感染症（例えば、深在性の化膿症や慢性感染症など）、菌血症、敗血症、心内膜炎、骨髄炎などが挙げられる。

腐性ブドウ球菌による感染症には、これに限定されるものではないが、尿路感染症などが挙げられる。

*Staphylococcus haemolyticus*による感染症には、これに限定されるものではないが、尿路感染症などが挙げられる。

上記の感染症の少なくとも一部は、特に、人工医療デバイス・インプラント（例えば、人工弁、人工関節、中心静脈カテーテル、心臓弁など）埋め込み患者、手術患者、がん患者、血液透析患者、未熟児、糖尿病患者、免疫不全患者、高齢者、人工呼吸器使用者などで特に起こり易い。

[0017] 「抗体」は、抗原との結合性を有する免疫グロブリンポリペプチドのことをいい、軽鎖と重鎖とを含む一対または二対のポリペプチド鎖を有する全長抗体およびその一部分（断片）が含まれる。それぞれの重鎖または軽鎖は、可変領域（抗原に対する認識および結合に関係する）と定常領域（局在化および細胞間相互作用に関係する）を含み得る。最も一般的な全長抗体は、2箇所の重鎖定常領域（ $C_H$ ）、2箇所の重鎖可変領域（ $V_H$ ）、2箇所の軽鎖定常領域（ $C_L$ ）、および2箇所の軽鎖可変領域（ $V_L$ ）を含む。可変領域は、抗原特異性を抗体に付与する配列である相補性決定領域（CDR）と、フレームワーク領域（FR）とを含む。

[0018] 抗体は、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、少なくとも2つの抗体から形成される多重特異性抗体（例えば二重特異性抗体）、および所望の生物学的活性を有する抗体断片を含む。また、抗体は、キメラ抗体（例えば

ヒト化抗体)、(完全)ヒト抗体、多価抗体、改変抗体を含む。

また、抗体は、発明の効果を損なわない範囲で、何れのクラス(例えば、IgG、IgA、IgM、IgD、IgE)、何れのサブクラスであってもよい。

また、特に抗体がFc領域を含む場合、抗体は糖鎖を含み得る。哺乳動物細胞によって産生される抗体は典型的にはFc領域のCH2ドメインのAsn297へのN結合によって一般に結合した分岐オリゴ糖を含む(例えば、Wright et al., (1997) TIBTECH 15: 26-32を参照のこと)。オリゴ糖は様々な炭水化物、例えばマンノース、N-アセチルグルコサミン(GlcNAc)、ガラクトース、およびシアル酸、並びに二分岐オリゴ糖構造の「ステム部」としてGlcNAcに結合したフコースを含み得る。

[0019] 「可変領域」または「可変ドメイン」とは、抗体の重鎖または軽鎖のアミノ末端側に存在し、一般に抗体中で最も可変で、抗原結合部位を含むドメインを意味する。重鎖の可変領域をV<sub>H</sub>、軽鎖の可変領域をV<sub>L</sub>と称する。可変領域は、可変領域中で最も高頻度に変化している相補性決定領域(CDR)または高頻度可変領域(HVR)と呼ばれる3つのセグメントと、比較的高度に保持されたフレームワーク領域(FR)と呼ばれるセグメントとを含む。天然抗体の重鎖および軽鎖の可変領域は、βシート構造を形成する3つのCDRならびに4つのFR領域をそれぞれ含む。各鎖のCDRは、FRと結合しており、他の鎖のCDRと共に、抗体の抗原結合部位の形成に寄与している(例えば、Kabat et al., Sequence of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. National Institutes of Health, Bethesda, MD. (1991)を参照のこと)。

[0020] 「相補性決定領域」または「CDR」(あるいは「高頻度可変領域」、「HVR」または「HV」)とは、高頻度可変であり、ループを形成する抗体可変領域中の領域を指す。抗体は一般にV<sub>H</sub>に3つのCDR(CDRH1、CDRH2、CDRH3)、V<sub>L</sub>に3つのCDR(CDRL1、CDRL2、CDRL3)を含む。

[0021] CDRの定義としては、本発明の効果を損なわない範囲で、任意の定義を用いることができる。CDRの定義としては、これに限定されるものではないが、例えば、Kabat、Chothia、AbM、contact（接触）等の、当該技術分野で用いられる通常のCDRの定義を用いることができる。Kabatの定義は配列変化に基づいており、最も一般的に使用されている（例えば、Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD. (1991)を参照のこと）。Chothiaは、構造的ループの位置も考慮して定められたものである（例えば、Chothia and Lesk J. Mol. Biol. 196: 901-917 (1987)を参照のこと）。AbMは、KabatとChothia構造的ループの中間の定義であり、Oxford Molecular社のAbM抗体モデリングソフトウェアにより使用される。contactは、複合体結晶構造の分析に基づく。これらCDRのそれぞれの定義を以下に示す。

[0022] [表1]

カブ	Kabat	Chothia	AbM	contact
CDRL1	L24-L34	L26-L32	L24-L34	L30-L36
CDRL2	L50-L56	L50-L52	L50-L56	L46-L55
CDRL3	L89-L97	L91-L96	L89-L97	L89-L96
CDRH1 (Kabat番号付け)	H31-H35B	H26-H32..34	H26-H35B	H30-H35B
CDRH1 (Chothia番号付け)	H31-H35	H26-H32	H26-H35	H30-H35
CDRH2	H50-H65	H53-H55	H50-H58	H47-H58
CDRH3	H95-H102	H96-H101	H95-H102	H93-H101

[0023] CDRは、以下のうちの少なくとも1つの「拡大CDR」を含んでもよい。

$V_L$ の24-36または24-34 (CDRL1)、46-56または50-56 (CDRL2)、89-97または89-96 (CDRL3)、 $V_H$ の26-35 (CDRH1)、50-65または49-65 (CDRH2)、93-102、94-102または95-102 (CDRH3)

[0024] 本明細書では、特に明記しない限り、抗体の軽鎖可変領域または重鎖可変

領域のアミノ酸残基の番号付けには、「K a b a t 番号付けシステム」（K a b a t による可変領域残基番号付けあるいはK a b a t のアミノ酸位番号付け）を用いる。この番号付けでは、アミノ酸配列は、可変領域のF RまたはC D R内の挿入に相当する付加的なアミノ酸を含み得る。例えば、重鎖可変領域には、重鎖F R残基82の後（残基82 a、82 bおよび82 cなど）ならびにC D R H 2の残基52の後（残基52 a）にアミノ酸の挿入を含んでもよい。残基のK a b a t 番号は、標準的なK a b a t 番号付け配列によって抗体の配列の相同領域でアライメントすることによって決定することができる。

また、別段明記する場合には、C h o t h i aによる番号付け等の、当業者に公知の他の番号付けを用いることもできる。

[0025] 「E U番号付けシステム」または「E Uインデックス」は一般に、免疫グロブリン重鎖定常領域を指す場合に用いられる。「K a b a t のE U番号付け」または「K a b a t のE Uインデックス」は、上述したK a b a t の番号付けとE U番号付けとを組み合わせた番号付けで、ヒトI g G 1の番号付けなどに広く用いられている。本明細書中では、特に明記しない限り、抗体の定常領域のアミノ酸残基の番号付けには、E U番号付けシステムによる残基番号付けを用いる。

[0026] 「定常領域」または「定常ドメイン」とは、抗体の重鎖または軽鎖のカルボキシ末端側に存在し、一般に変化が少なく、局在化および細胞間相互作用（エフェクター機能）に関与し得るドメインを意味する。重鎖の定常領域をC<sub>H</sub>、軽鎖の定常領域をC<sub>L</sub>と称する。

「F c領域」とは、一般にC H 2ならびにC H 3領域からなる、抗体の重鎖のC末端領域を意味する。重鎖のF c領域の境界は変化し得るが、例えば、ヒトI g G重鎖F c領域は、一般には、C y s 2 2 6またはP r o 2 3 0のアミノ酸残基からF c領域のカルボキシル末端までからなる。

[0027] 抗体の重鎖の定常領域のアミノ酸配列に基づいて、抗体には異なるクラス（例えば、I g A、I g D、I g E、I g GおよびI g Mの5つのクラス、

さらに I g G<sub>1</sub>、I g G<sub>2</sub>、I g G<sub>3</sub>、I g G<sub>4</sub>、I g A<sub>1</sub>、および I g A<sub>2</sub>等のサブクラス（アイソタイプ）が割り当てられる。上述の5つのクラスに対応する重鎖定常領域はそれぞれ $\alpha$ 、 $\delta$ 、 $\epsilon$ 、 $\gamma$ 、および $\mu$ と呼ばれる。

また、脊椎動物種の抗体の軽鎖は、その定常領域のアミノ酸配列に基づいて、カッパ（ $\kappa$ ）およびラムダ（ $\lambda$ ）の何れかを取り得る。

[0028] 抗体の「エフェクター機能」とは、抗体のF<sub>c</sub>領域の有する生物学的活性を意味し、抗体のアイソタイプにより変わり得る。抗体のエフェクター機能の例には、C1q結合および補体依存性細胞障害（CDC）；F<sub>c</sub>レセプター結合性；抗体依存性細胞媒介性細胞障害（ADCC）；貪食作用；細菌機能の障害・阻害；毒素の中和；および免疫担当細胞（例えばB細胞）活性化が含まれる。

[0029] 上述したF<sub>c</sub>領域は通常、好中球、マクロファージ、他の免疫補助細胞、補体複合体、および免疫系の受容体への結合部位となる。細菌タンパク質（例えば、プロテインA、プロテインGなど）が、これらの結合部位近傍でF<sub>c</sub>領域と結合すると、F<sub>c</sub>領域の正常な機能が阻害され、細菌に対する免疫応答が妨害される可能性がある。例えば、黄色ブドウ球菌の細胞壁に見られる細菌タンパク質であるプロテインAは、I g GのF<sub>c</sub>領域の上記結合部位近傍に結合することができる。これを阻止するために、F<sub>c</sub>領域は、細菌タンパク質（特にブドウ球菌タンパク質）に結合しないように改変することもできる。そのような改変には、例えば、抗体のアミノ酸配列におけるアミノ酸の付加、欠失、一または複数のアミノ酸の置換、アイソタイプ（サブクラス）スイッチ、およびクラススイッチが含まれる。

また、抗体は、公知の任意の方法によって修飾が行われた修飾抗体も含む。例えば、糖鎖の修飾（WO 0 0 6 1 7 3 9など）やF<sub>c</sub>領域のアミノ酸の変異（US 2 0 0 5 0 0 5 4 8 3 2 A 1）などはF<sub>c</sub>受容体等との結合を高め、より高い治療効果をもたらすことができる。

[0030] 「モノクローナル抗体」とは、実質的に均一な抗体の集団から得られる抗体をいう。集団に含まれる個々の抗体は、少量で存在する可能性がある突然

変異（例えば自然に生じる突然変異など）を除いて同一である。また、モノクローナル抗体は、その作製方法に拠らず、様々な常法に従い作製することができる。それらの作製方法には、例えば、ハイブリドーマ法、組換えDNA法（例えば、米国特許第4816567号を参照のこと）、ファージディスプレイ技術、ならびに、ヒト免疫グロブリン座の一部もしくは全部またはヒト免疫グロブリン配列をコードする遺伝子を有する動物にヒトまたはヒト様抗体を生成する技術が含まれる。

[0031] 「キメラ抗体」とは重鎖あるいは軽鎖もしくはその両方の部分が特定の種に由来するアミノ酸配列を持ち、残りの部分は別の種に由来するアミノ酸配列からなる抗体をいう。例えば、ラットやマウスの抗体など、動物の抗体由来の可変領域が、別の分子（例えば、ヒト抗体由来の定常領域）と融合した抗体が含まれる。

「ヒト化抗体」は、キメラ抗体の一種であり、重鎖および／または軽鎖の可変領域配列が既知のヒト可変領域配列と大きく一致するよう変更された可変領域を有する抗体である。このような変更は従来技術で既知であり、これに限定されるものではないが、典型的には突然変異誘発またはCDR移植によってなされる。CDR移植は、所望の特異性を有する抗体のCDRをヒト抗体のフレームワークに移植し、それによって大部分の非ヒト配列をヒト配列と交換することをいう。

[0032] 例えば、ベストフィット方法によれば、ドナー抗体の可変領域の配列を、既知のヒト可変領域配列のライブラリー全体に対してスクリーニングし、ドナーの配列に最も近いヒト配列を、ヒト化抗体のヒトフレームワークとして用いる。別の方法では、軽鎖または重鎖の特定のサブグループの全ヒト抗体のコンセンサス配列から得られた特定のフレームワークを使用する。同じフレームワークを数種の異なるヒト化抗体に使用することができる。

[0033] 抗体は、抗原に対する親和性および／または所望の生物学的特性を保持してヒト化されることが好ましい。そのため、例えば、親抗体の配列およびヒト化配列の三次元モデルを用いて、親抗体配列および様々な概念上のヒト化

産物を分析するプロセスが行われてもよい。

ヒト化抗体は、レシピエント抗体（ヒト抗体）にも、ドナー抗体（マウス抗体）にも、見出されない残基を含んでいてもよい。マウスモノクローナル抗体をヒト化することにより、ヒト抗マウス抗体（HAMA）応答が低減される。

[0034] 「ヒト抗体」は、重鎖および軽鎖の両方の定常領域および可変領域がすべてヒト由来であるか実質的にそれと同一の抗体、および／またはここで開示されたヒト抗体を製造するための何れかの技術を使用して製造された抗体をいう。

ヒト抗体は、様々な従来技術により作製することができるが、例として以下の方法を挙げることができる。

例えば、ヒト由来のファージディスプレイライブラリーから選択したF<sub>v</sub>クローン可変領域配列を既知のヒト定常領域配列と組み合わせることにより、ヒト抗体を作製することができる。

[0035] また、抗原刺激に应答して、内在性免疫グロブリンの産生なしに、ヒト抗体の完全なレパートリーを産生することが可能なトランスジェニック動物（例えばマウス；例えば免疫化ゼノマウス）に抗原を投与することによってヒト抗体を調製することができる（例えば、XENOMOUSE技術に関する米国特許第6075181号および同第6150584号を参照のこと）。また、生殖細胞系変異体マウスでの抗体重鎖結合領域（JH）遺伝子のホモ接合体欠失は、内因性抗体を産生しないことが知られており、このマウスへヒト生殖細胞系免疫グロブリン遺伝子配列を持つ胚性幹細胞を移植したマウスでは、抗原の投与によってヒト抗体を産生する。

[0036] また、ヒト抗体は、ヒトのB細胞ハイブリドーマ技術によっても作製することができる（例えば、Li et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 103: 3557-3562 (2006)を参照のこと）。ヒトモノクローナル抗体の産生のためのヒトミエローマおよびマウスーヒトヘテロミエローマ細胞株は、例えば、Kozbor, J. Immunol. 133, 3001 (1984); Brodeur et al., Monoclonal Antibody Pr



duction Techniques and Applications, pp.51-63 (Marcel Dekker, Inc., New York, 1987); Boerner et al., J. Immunol., 147: 86 (1991)に記載されている。

また、ヒト抗体が、非ヒト親抗体（例えばマウス抗体）と類似した親和性および特性を有している場合、非ヒト親抗体からヒト抗体を得るために遺伝子シャッフリングを使用することもできる（エピトープインプリンティングとも称される；例えば、国際公開第93/06213号を参照のこと）。CDR移植による非ヒト抗体のヒト化と異なり、この技術により、非ヒト起源のFRまたはCDR残基を全く有さないヒト抗体を得ることもできる。

[0037] 「抗体断片」とは、抗原結合を付与するのに十分な可変領域配列を含む抗体の一部をいう。そのような抗体部分には、これに限定されるものではないが、Fab、Fab'、F(ab')<sub>2</sub>、Fv、scFv（一本鎖抗体）、ダイアボディ、が含まれる。これらの抗体断片は、常法に従って作製することができ、例えば、パパイン消化やペプシン消化などの、抗体のタンパク分解切断法、抗体の重鎖および軽鎖のcDNAを操作して、重鎖および軽鎖の断片を別々に、または同じポリペプチドの部分として生成する組換え法などにより作製することができる。抗体のパパイン処理は、「Fab」断片と呼ばれる2つの同一の抗体断片を生成し、その各々は単一の抗原結合部位を持ち、残りは容易に結晶化する能力を反映して「Fc」断片と命名される。抗体のペプシン処理は「F(ab')<sub>2</sub>」断片を生じ、それは2つの抗原結合部位を持ち、抗原を交差結合することができる。

[0038] 抗体断片を産生するために様々な技術が開発されている。例えば、これらの断片は、抗体のタンパク質分解（切断、消化）によって誘導することができる。また、これらの断片は、組換え宿主細胞（例えば大腸菌、ファージ）により直接産生することもできる。また、宿主細胞から回収したFab'-SH断片を化学的に結合させることでF(ab')<sub>2</sub>断片を形成することもできる。

[0039] ある実施態様では、抗体は単鎖Fv断片（scFv）である。scFvは

、定常領域を欠く連結部位を有する種であり、*in vivo*での非特異的結合が少ないという利点がある。*scFv*融合タンパク質は、*scFv*のアミノまたはカルボキシ末端のどちらかで、エフェクタータンパク質との融合体が生成されるように構成してもよい。また、抗体断片は、例えば米国特許第5641870号に記載されているような「線状抗体」であってもよい。そのような線状抗体断片は単一特異性または二重特異性の何れであってもよい。

[0040] 「Fv」断片は、完全な抗原結合部位を含む最小抗体断片である。二本鎖Fvは一般に、一つの重鎖および一つの軽鎖可変ドメインの二量体からなる。一本鎖Fv (*scFv*) は一般に、ペプチドリinkerによって一つの重鎖および一つの軽鎖可変ドメインが共有結合により連結されている。これらの場合、各可変領域の3つのCDRは相互に作用して二量体表面に抗原結合部位を形成し、6つのCDRが抗体に抗原結合特異性を付与する。しかし、単一の可変領域（あるいは抗原に対して特異的な3つのCDR）でさえ、全結合部位よりも親和性が低くなるものの、抗原を認識して結合する能力を有している。

[0041] 「Fab」断片は、重鎖および軽鎖の可変領域を含み、軽鎖の定常領域と重鎖の第一定常領域 (CH1) を有する抗体断片である。Fab'断片は、重鎖CH1領域のカルボキシ末端に、抗体ヒンジ領域からの一または複数のシステインを含む数個の残基が付加している点でFab断片とは異なる。Fab'-SHは、定常領域のシステイン残基が一つの遊離チオール基を担持しているFab'のことをいう。また、「F(ab')<sub>2</sub>」断片は、間にヒンジシステインが形成するジスルフィド結合を有するFab'断片の対である。

[0042] 「ダイアボディ」とは、2つの抗原結合部位を持つ抗体断片をいい、同一のポリペプチド鎖 (V<sub>H</sub>-V<sub>L</sub>) 内で軽鎖可変領域 (V<sub>L</sub>) に重鎖可変領域 (V<sub>H</sub>) が結合してなる。同一鎖上で2つのドメインの対形成が可能である短いリンカーを使用して、ドメインを他の鎖の相補ドメインと強制的に対形成させ

、2つの抗原結合部位を創製する。ダイアボディは二重特異性であってもよい。同様に、トリアボディおよびテトラボディが用いられてもよい。

[0043] 「多価抗体」は、3またはそれ以上の抗原結合部位を有する抗体をいう。多価抗体は、一般に、二量体化ドメイン（例えば、Fc領域またはヒンジ領域）と3またはそれ以上（例えば、3から8、特に4）の抗原結合部位とを有する。

「多重特異性抗体」は、少なくとも2つの異なる抗原に対して結合特異性を有する抗体（抗体断片も含む）であり、特に2つの異なる抗原に対して結合特異性を有する抗体（抗体断片も含む）を、「二重特異性抗体」という。

[0044] 「結合親和性」は、分子（例えば抗体）の単一結合部位とその結合パートナー（例えば抗原）との間の非共有結合的な相互作用の総合的な強度を意味する。特に明記しない限り、結合親和性は、結合対のメンバー（例えば抗体と抗原）間の1：1相互作用を反映する結合親和性を意味する。親和性は、当業者に公知の方法により測定することができる。

抗体は、例えばELISA、ウエスタンブロットなどといった公知の方法によって、その抗原結合活性について試験することができる。

[0045] 「抗ブドウ球菌抗体」もしくは「ブドウ球菌結合性抗体」とは、ブドウ球菌の菌体（生菌もしくは死菌）、またはブドウ球菌を構成するもしくはブドウ球菌が分泌する分子（タンパク質、糖、糖鎖、脂質）もしくはその断片と、十分な親和性で結合することのできる抗体を意味する。

これらの抗体は、ELISAなどのアッセイによって、非特異的結合（バックグラウンド）に対して得られるシグナルの少なくとも1.5倍、少なくとも2倍、少なくとも3倍、少なくとも5倍、または少なくとも10倍の結合親和性が得られる場合、特異的に結合するということができる。これらの抗体は、更に好ましくは、本発明の効果を損なわせる他の抗原（他の細菌や他の生物）との結合が、ブドウ球菌との結合の50%以下、30%以下、20%以下、10%以下、5%以下、2%以下、または1%以下である。

[0046] もちろん、これらの場合においても、本発明の抗体は、本発明の目的を達

成可能な範囲で、他の抗原と交差結合を示す抗体であってもよく、そのような抗体も本発明の抗体に含まれる（例えば、抗黄色ブドウ球菌抗体には、黄色ブドウ球菌のみに結合する抗体のみならず、他のブドウ球菌（例えば、表皮ブドウ球菌、腐性ブドウ球菌、または *Staphylococcus haemolyticus*）にも交差結合を示す抗体も含まれ得る。場合によってはその交差反応性が好適に用いられる）。

結合強度の指標としては、例えば、解離定数 ( $K_d$ ) を用いることができ、結合強度の測定には、ELISA、ラジオイムノアッセイ、表面プラズモン共鳴等、当分野で公知の手法を用いることができる。また、これら抗原中の具体的なエピトープについては、ELISA、ウエスタンブロットといった手法を用い、同定することができる。

[0047] 抗体には、一または複数の薬剤（特に抗菌物質）とコンジュゲートされた抗体も含まれる（このような抗体を特に「抗体薬剤コンジュゲート」または「ADC」と称すこともある）。また、抗体には、一または複数の標識マーカー（放射性同位体など）とコンジュゲートされ、検出可能に標識された抗体も含まれる。なお、薬剤ならびに放射性標識とコンジュゲートしていない抗体を、特にネイキッド抗体と呼ぶ。

このようなコンジュゲート抗体において、抗体 ( $Ab$ ) は、望ましくはリンカー ( $L$ ) を介して、一または複数の薬剤部分 ( $D$ )、例えば1抗体につき1から20の薬剤部分にコンジュゲートされる。このようなコンジュゲート抗体は、公知の有機化学反応ならびに試薬を用いる手段によって作製することができる。コンジュゲート抗体 ( $Ab-D$ 、または  $Ab-(L-D)_p$ ) は、これに限定されるものではないが、例えば、(1) 抗体の求核基を二価のリンカー試薬と反応させて共有結合を介して  $Ab-L$  を形成した後、薬剤部分と反応させること；あるいは(2) 薬剤部分の求核基を二価のリンカー試薬と反応させて共有結合を介して  $D-L$  を形成した後、抗体の求核基と反応させることにより作製してもよい。

[0048] 「抗菌物質」とは、細菌の増殖を抑制もしくは細菌を死滅させる働きのある

る物質である。抗菌物質には、これに限定されるものではないが、例えば、  
抗生剤、合成抗菌剤、溶菌酵素、抗菌ペプチドが含まれる。

「抗生剤」としては、例えばペニシリン、セファゾリン、イミペネム、ゲ  
ンタマイシン、テトラサイクリン、クロラムフェニコール、エリスロマイシ  
ン、ダプトマイシン、バンコマイシンが挙げられる。

「合成抗菌剤」としては、例えばレボフロキサシン、モキシフロキサシ  
ン、リネゾリドが挙げられる。

「溶菌酵素」としては、例えばアクロモペプチダーゼ、ラビアーゼ、リソ  
スタフィン、リゾチーム、ムタノリシンが挙げられる。

「抗菌ペプチド」としては、例えばデフェンシン、カセリシジン、ヘパシ  
ジン、ヒスタチン、ラクトフェリン、ダーミシジンが挙げられる。

[0049] 「ポリヌクレオチド」または「核酸」は、任意の長さのヌクレオチドのポ  
リマーを意味し、DNAおよびRNAが含まれる。ヌクレオチドは、デオキ  
シリボヌクレオチド、リボヌクレオチド、修飾されたヌクレオチド（例えば  
、メチル化ヌクレオチド）または塩基、および／またはそれらのアナログを  
含む。ヌクレオチドは、DNAもしくはRNAポリメラーゼまたは合成反応  
により連結される。ポリヌクレオチドまたは核酸は、ヌクレオチドの連結後  
になされる修飾（例えば標識または保護基との結合）を含んでもよい。また  
、「オリゴヌクレオチド」とは、短く、一般的に単鎖であるポリヌクレオチ  
ドを意味する。これに限定されるものではないが、一般的に約200未満の  
ヌクレオチド長さの合成のポリヌクレオチドを意味し得る。

[0050] 「ベクター」は、他の核酸を輸送することのできる核酸分子を意味する。  
ベクターには、プラスミド（付加的なDNAが結合した円形の二本鎖DNA  
）、ファージベクター（付加的なポリヌクレオチドが結合したファージ）、  
ウィルスベクター（付加的なポリヌクレオチドが結合したウィルス）などが  
含まれる。あるベクターは、それが導入される宿主細胞内において自己複製  
することができる（例えば、細菌の複製開始点を有する細菌ベクターとエビ  
ソーム哺乳動物ベクター）。他のベクターは、宿主細胞への導入時に宿主細

胞のゲノム中に組み込まれ、宿主ゲノムと共に複製する（例えば、非エピソード哺乳動物ベクター）。更に、あるベクターは、それらが作用可能に結合している遺伝子の発現を指令し得る。このようなベクターを発現ベクターまたは組換え発現ベクターと称する。一般に、組換えDNA技術で有用な発現ベクターはプラスミドの形をとることが多い。

[0051] 「パーセント (%) アミノ酸配列同一性」並びに「パーセント (%) ヌクレオチド配列同一性」とは、配列を整列させ、最大のパーセント配列同一性を得るために必要ならば間隙を導入し、如何なる保存的置換も配列同一性の一部と考えないとした後の、二つのアミノ酸配列間のアミノ酸残基が同一であるアミノ酸残基数パーセント並びに二つのヌクレオチド配列間の塩基が同一である塩基数パーセントとして定義される。%アミノ酸配列同一性並びに%ヌクレオチド配列同一性を測定する目的のためのアラインメントは、当業者の技量の範囲にある種々の方法、例えばBLAST、BLAST-2、ALIGN、またはMegaalign (DNASTAR) ソフトウェアのような公に入手可能なコンピュータソフトウェアを使用することにより達成可能である。当業者であれば、比較される配列の完全長に対し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、配列をアラインメントするための適切なパラメータを決定することができる。しかし、ここでの目的のためには、%アミノ酸配列同一性値並びに%ヌクレオチド配列同一性値は、配列比較コンピュータプログラムBLASTを使用することによって得られる。

[0052] 一定の配列同一性を有するポリペプチドまたは核酸は、基となるアミノ酸/ヌクレオチド配列に対し、幾つかのアミノ酸/ヌクレオチドの変異（変更）を含み得る。このような修飾は、対象分子の特性（例えば、抗体の結合親和性および/または生物学的特性）を向上させることができるものであればより望ましい。ポリペプチドのアミノ酸配列変異体は、ポリペプチドの核酸に適切なヌクレオチド変化を導入して、またはペプチド合成により調製してよい。そのような変異は、アミノ酸配列内の残基の欠失および/または挿入

および／または置換を含む。対象分子が所望する特徴を保持する範囲内であれば、欠失、挿入および置換はどのように組合せてもよい。

ある配列に対し、変異を導入する方法としては、天然源からの単離（天然に生じるアミノ酸／ヌクレオチド配列変異体の場合）、部位特異的変異、PCR突然変異誘発、およびカセット変異導入を含むが、これらに限定されない。

[0053] ポリペプチドは、グリコシル化の程度を増加または減少させるために改変されていてもよい。ポリペプチドのグリコシル化は、典型的には、N結合またはO結合の何れかである。N結合とは、アスパラギン残基の側鎖への炭水化物部分の結合を意味する。アスパラギン-X-セリンおよびアスパラギン-X-スレオニン（ここでXはプロリンを除く任意のアミノ酸）のトリペプチド配列は、アスパラギン側鎖への糖鎖部分の酵素的結合のための認識配列である。従って、ポリペプチド中にこれらのトリペプチド配列の何れかが存在すると、潜在的なグリコシル化部位が存在することになる。O結合グリコシル化は、ヒドロキシアミノ酸、最も一般的にはセリンまたはスレオニンに、糖類N-アセチルガラクトサミン、ガラクトース、またはキシロースの一つが結合することを意味するが、5-ヒドロキシプロリンまたは5-ヒドロキシリジンに結合することもある。

[0054] ポリペプチドへのグリコシル化部位の付加または欠失は、アミノ酸配列を、上述のトリペプチド配列（N結合グリコシル化部位のもの）の一または複数を作製されまたは取り除かれるように変化させることによって達成することができる。この変化は、基となるポリペプチドの配列への一または複数のセリンまたはスレオニン残基の付加、欠失、または置換によってもなされる（O-結合グリコシル化部位の場合）。

また、ポリペプチドに結合したオリゴ糖（糖鎖）が天然体から変更されたものも、あるアミノ酸配列を有するポリペプチドに含まれ得る。

[0055] また、アミノ酸残基の好ましい置換は、保存的置換であり、その一例を表2に示す。このようなアミノ酸置換を、ポリペプチドに導入し、所望する活

性／効果（例えば、抗原結合性、免疫原性、ADCCまたはCDC等）について置換体をスクリーニングすることができる。

非保存的置換は、これらの分類の一つのメンバーを他の分類に交換することであり、所望の特徴を保持される範囲で、非保存的置換を行うこともできる。

[0056] [表2]

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

[0057] 抗体の変異体については、親抗体の相補性決定領域（CDR）および／またはフレームワークのアミノ酸残基が変更されていてもよい。親抗体から変異体を作製する方法としては、これに限定されるものではないが、親和性成熟法（例えば、ファージディスプレイ法を用いたもの）が挙げられる。また、抗原抗体複合体の結晶構造を分析することにより、候補変異点を決定し、変異体を作製してもよい。

[0058] 「精製」とは、対象分子が、含まれる試料中の重量にして少なくとも95



%、少なくとも98%、あるいは少なくとも99%の濃度で試料中に存在するように、不純物を除去することを意味する。

「単離された」とは、対象分子が、自然環境に通常付随している少なくとも一の他の類似分子（ポリペプチド、核酸など）から分離されおよび／または回収されている状態にあることを意味する。通常は、単離された分子は、少なくとも一の精製工程を経て調製される。

[0059] 「哺乳動物」には、これに限定されるものではないが、家畜動物（ブタ、ヒツジ、ヤギ、ウマ、ウシ（肉牛、乳牛を含む）、水牛、ラクダなど）、愛玩動物（ネコ、イヌなど）、実験動物（ウサギ、マウス、ラットなど）、霊長類（ヒトなど）などが含まれる。

「治療」とは、既に起こった感染の減少、緩和または軽減を意味し、「予防」とは、将来的な感染に対する防御を意味する。治療の望ましい効果には、症状の寛解、疾病の任意の直接的または間接的病理的結果の低減、症状悪化の進行速度の低減、疾病状態の回復または緩和、予後の改善が含まれる。

[0060] 「有効量」とは、対象に投与した場合、所望の効果を奏することのできる薬物の用量を意味し、「治療的有效量」とは、対象に投与した場合、治療効果を奏することのできる薬物の用量を意味し、「予防的有效量」とは、対象に投与した場合、予防効果を奏することのできる薬物の用量を意味する。有効量は、それぞれの物質の活性度、代謝安定性、作用時間、排出速度、送達様式（投与方式）および投与時間、治療対象の年齢、体重、一般的健康状態、性別および日常の飲食物、投与時の薬剤組み合わせ（薬物相互作用）、治療される症状の重篤性などを含む多様な要因に依存して変動し得る。有効量は、当業者により、当該技術分野で既知の情報および本開示を考慮して慣用的に決定することができる。いくつかに分割した用量を1日あたりに投与する（例えば、1日あたり分割用量を2～4回）こともでき、また、単回用量を投与することもできる。また、投与は、毎日、毎週または毎月の何れを基本としてもよい。典型的には、予防的有效量は、治療的有效量よりも少ない。

[0061] 「薬学的に許容される」とは、活性成分の生物学的活性を著しく低減せず、投与対象の被検体にとって許容できない毒性のある他の成分を含まないことを意味する。

「無菌の」あるいは「滅菌」とは、防腐性であるか、または実質的に全ての生きている微生物およびそれらの胞子を含まないことを意味する。

[0062] [実施の形態]

以下、本発明を実施するための形態を用いて、本発明を詳細に説明するが、本発明はこれに限られるものではない。

これらの態様は、単独でも、複数を組み合わせてもよい。また、各態様の定義や詳細については、前述の「用語および態様の説明」も参照のこと。

本明細書で用いられる公知の技術および手順は、当業者には十分に理解されるものであり、常法に従い実施することができる。

[0063] [抗体]

本発明のある態様は、脱アセチル化したブドウ球菌を免疫して得られる、ブドウ球菌感染症の治療または予防効果（ブドウ球菌増殖阻害作用、ブドウ球菌傷害作用）を有する抗ブドウ球菌抗体である。

従来抗原（エピトープ）の選択による、莢膜成分、特定の産生毒素、特定の細胞壁結合タンパク質や菌体成分などを抗原とするワクチン・抗体では必ずしも十分な結果が得られていなかったため、本発明者らは新規の抗原ならびに抗体の開発を目的として鋭意検討を重ね、脱アセチル化したブドウ球菌を抗原として作製した抗体が、ブドウ球菌感染症の治療または予防において、優れた効果を発揮することを見出して本発明を完成した。

上記態様において、ブドウ球菌としては、これに限定されるものではないが、ブドウ球菌の菌体そのものを用いることができ、より好ましくは、細胞壁あるいは細胞壁を含む画分・精製物等を用いることができる。脱アセチル化の手法としては、これに限定されるものではないが、脱アセチル化酵素を用いた酵素法、アルカリ処理を用いた化学法などが挙げられる。アンモニア水でブドウ球菌を処理することが簡便かつ温和な条件での脱アセチル化のた

め好ましい。脱アセチル化の手法の詳細については後述する。

本発明の抗体は、ブドウ球菌と結合することにより、ブドウ球菌感染症の予防・治療あるいはブドウ球菌の検出に好適に用いることができる。本発明の抗体は、ブドウ球菌の中でも、黄色ブドウ球菌に対して特に高い効果を発揮する。また、本発明の抗体は、ブドウ球菌の中でも、黄色ブドウ球菌を抗原として用いることにより、好適に得ることができる。

[0064] 本発明のある態様は、Z B I A 5 H抗体またはZ B I A 3 H抗体由来のC D R配列を含む抗ブドウ球菌抗体である。ここで、Z B I A 5 H抗体由来のC D Rを含む抗ブドウ球菌抗体をZ B I A 5 H系列抗体、Z B I A 3 H抗体由来のC D Rを含む抗ブドウ球菌抗体をZ B I A 3 H系列抗体と称する。

C D R配列は、抗原特異性を抗体に付与する配列であるため、Z B I A 5 H抗体またはZ B I A 3 H抗体由来のC D R配列を含む抗体であれば、他の配列は異なる場合でも、Z B I A 5 H抗体またはZ B I A 3 H抗体由来の所望の生物学的特性を発揮できるものと考えられる。

[0065] Z B I A 5 H抗体またはZ B I A 3 H抗体由来のC D Rとは、それぞれの抗体のC D R配列とアミノ酸配列同一性90%以上、95%以上、98%以上あるいは100%のアミノ酸配列を有するC D Rをいう。好ましくは、Z B I A 5 H抗体またはZ B I A 3 H抗体と同一のC D Rを有する。

可変領域のC D Rは、フレーム領域によって構造を保持され、他の鎖からのC D Rとともに抗体のエピトープの形成に寄与しているが、これらのアミノ酸配列は公知の方法により変更することが可能である。一定の範囲のアミノ酸配列同一性を有するC D Rは機能的には同等の抗体特性を有する蓋然性が高い。

C D Rは、本発明の効果を損なわない範囲で、公知の何れの定義に基づくC D Rであってもよいが、K a b a t、C h o t h i a、A b Mまたはc o n t a c tの何れかにより定義されたC D Rが好適に用いられ、さらに好適には、K a b a tにより定義されたC D Rが用いられる。

[0066] すなわち、本発明のある態様は、重鎖可変領域が、配列番号：1、2およ

び3に示されるアミノ酸配列あるいは配列番号：9、10および11に示されるアミノ酸配列とアミノ酸配列同一性90%以上、95%以上、98%以上あるいは100%のアミノ酸配列を含むCDRを含み、軽鎖可変領域が、配列番号：4、5および6に示されるアミノ酸配列あるいは配列番号：12、13および14に示されるアミノ酸配列とアミノ酸配列同一性90%以上、95%以上、98%以上あるいは100%のアミノ酸配列を含むCDRを含む抗ブドウ球菌抗体である。

[0067] ここで、配列番号：1はZ B I A 5 H抗体重鎖CDR1、配列番号：2はZ B I A 5 H抗体重鎖CDR2、配列番号：3はZ B I A 5 H抗体重鎖CDR3、配列番号：4はZ B I A 5 H抗体軽鎖CDR1、配列番号：5はZ B I A 5 H抗体軽鎖CDR2、配列番号：6はZ B I A 5 H抗体軽鎖CDR3を表す。

また、配列番号：9はZ B I A 3 H抗体重鎖CDR1、配列番号：10はZ B I A 3 H抗体重鎖CDR2、配列番号：11はZ B I A 3 H抗体重鎖CDR3、配列番号：12はZ B I A 3 H抗体軽鎖CDR1、配列番号：13はZ B I A 3 H抗体軽鎖CDR2、配列番号：14はZ B I A 3 H抗体軽鎖CDR3を表す。

なお、上記各配列はK a b a tの定義によるCDR配列である。

[0068] これに限定されるものではないが、Z B I A 5 H系列抗体の代表例としては、重鎖可変領域が配列番号：1、2および3に示されるアミノ酸配列を含むCDRH1、2および3をそれぞれ含み、軽鎖可変領域が配列番号：4、5および6に示されるアミノ酸配列をそれぞれ含むCDRL1、2および3を含む抗ブドウ球菌抗体が挙げられる。

また、同様に、これに限定されるものではないが、Z B I A 3 H系列抗体の代表例としては、重鎖可変領域が配列番号：9、10および11に示されるアミノ酸配列をそれぞれ含むCDRH1、2および3を含み、軽鎖可変領域が配列番号：12、13および14に示されるアミノ酸配列をそれぞれ含むCDRL1、2および3を含む抗ブドウ球菌抗体が挙げられる。

[0069] また、Z B I A 5 H 系列抗体の更なる代表例としては、配列番号：7 に示されるアミノ酸配列とアミノ酸配列同一性 90%以上、95%以上、98%以上あるいは100%のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域と、配列番号：8 に示されるアミノ酸配列とアミノ酸配列同一性 90%以上、95%以上、98%以上あるいは100%のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域とを含む抗ブドウ球菌抗体が挙げられる。

同様に、Z B I A 3 H 系列抗体の更なる代表例としては、配列番号：15 に示されるアミノ酸配列とアミノ酸配列同一性 90%以上、95%以上、98%以上あるいは100%のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域と、配列番号：16 に示されるアミノ酸配列とアミノ酸配列同一性 90%以上、95%以上、98%以上あるいは100%のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域とを含む抗ブドウ球菌抗体が挙げられる。

ここで、配列番号：7 および 8 は、それぞれ Z B I A 5 H 抗体の重鎖および軽鎖可変領域配列であり、配列番号：15 および 16 は、それぞれ Z B I A 3 H 抗体の重鎖および軽鎖可変領域配列である。

可変領域配列全体の定まったこれらの態様では、より確実に抗体の治療または予防効果を発揮できる。

本発明のある態様では、受託番号：N I T E B P-1367 または受託番号：N I T E B P-1366 で寄託されたハイブリドーマにより産生される抗体（それぞれ、Z B I A 5 H 抗体または Z B I A 3 H 抗体と称する）が提供される。

[0070] 上記何れかの態様の抗体は、脱アセチル化したブドウ球菌を抗原として得られた抗体由来の抗体である。

上記何れかの態様において、抗体は、本発明の効果を損なわない範囲で、如何なる形態の抗体であってもよい。

これらの抗体も、好ましくは、ブドウ球菌感染症の治療または予防効果を有し、さらに好ましくは、薬剤耐性ブドウ球菌感染症の治療または予防効果を有する。

また、Z B I A 5 H系列抗体は、他の抗ブドウ球菌抗体（例えば、Z B I A 3 H系列抗体）と併用することで、それぞれの単独投与よりも更に優れたブドウ球菌感染症の治療または予防効果を奏することができる。

[0071] ある態様においては、上記の抗ブドウ球菌抗体は、黄色ブドウ球菌と結合し、また表皮ブドウ球菌、腐性ブドウ球菌、またはStaphylococcus haemolyticusとも結合することができる。この交差反応性により、黄色ブドウ球菌のみならず、他のブドウ球菌に対しても、予防、治療、検出などに好適に用いることができる。特に、臨床の観点から重要なブドウ球菌である表皮ブドウ球菌に交差反応性を示すことが好ましい。

[0072] 本発明の更なる態様は、抗体断片である上記何れかの態様の抗体、あるいは上記何れかの態様の抗体由来の抗体断片である。抗体断片は、発明の効果を損なわない範囲で、前述した抗体断片の何れであってもよい。好ましくは、抗体断片は、F a bもしくはF ( a b' )<sub>2</sub>である。抗体断片であることにより、その生産性に優れ、また感染巣への移行・浸透に優れる。

[0073] 本発明の更なる態様は、キメラ抗体、ヒト化抗体またはヒト抗体である上記何れかの態様の抗体、あるいは上記何れかの態様の抗体由来のキメラ抗体、ヒト化抗体またはヒト抗体である。キメラ抗体、ヒト化抗体またはヒト抗体は、発明の効果を損なわない範囲で、前述したキメラ抗体、ヒト化抗体またはヒト抗体の何れであってもよい。キメラ抗体、ヒト化抗体またはヒト抗体であることにより、抗原性の低減、体内動態の改善という効果を奏する。

[0074] 本発明の更なる態様は、抗菌物質とコンジュゲートした上記何れかの抗体である。抗菌物質は、発明の効果を損なわない範囲で、前述した抗菌物質の何れであってもよい。好ましくは、抗菌物質は、抗生物質、合成抗菌剤、溶菌酵素または抗菌ペプチドである。

抗菌物質とコンジュゲートしていることにより、細菌への効果的な抗菌物質の集中化による抗菌物質の抗菌作用増強、副作用の低減、抗体エフェクター作用と共同した抗菌作用の増強などの更なる効果を奏することができる。

[0075] さらに好ましくは、抗生物質は、バンコマイシンである。その場合、腎毒性等

の副作用が軽減され、バンコマイシン耐性菌にも効果を奏することができる。

さらに好ましくは、合成抗菌剤は、リネゾリドである。その場合、血球減少等の副作用が軽減され、リネゾリド耐性菌にも効果を奏することができる。

さらに好ましくは、溶菌酵素は、リソスタフィンである。その場合、抗原性の低減、体内動態の改善、溶菌作用増強、投与用量減量などの効果を奏することができる。

さらに好ましくは、抗菌ペプチドはカセリシジンである。その場合、抗菌作用増強、投与用量減量の効果を奏することができる。

[0076] [スクリーニングならびに製造方法]

本発明のある態様は、脱アセチル化したブドウ球菌により哺乳動物を免疫し、その哺乳動物から抗体産生細胞を得ることを含む、ブドウ球菌感染症の治療または予防効果を有する抗ブドウ球菌抗体の製造方法またはスクリーニング方法である。

この方法によれば、脱アセチル化により様々な抗原性を賦与することができ、新規でかつ多種類の抗体を製造することができる。

[0077] 本発明者らは、ブドウ球菌を脱アセチル化することにより、驚くべきことに、脱アセチル化による立体構造の変化でこれまでに得られていないエピトープを得ることに成功した。

アセチル化、脱アセチル化による荷電の変化が物質の立体構造や相互作用を変化させる一例としてヒストンを挙げるることができる。ヒストンは通常、陽性に荷電して、陰性に荷電しているDNAと静電的に結合することができる。しかし、ヒストンアセチル基転移酵素によりアセチル化されるとヒストンの荷電はなくなり、DNAとの結合は弱まる。ヒストン脱アセチル化酵素による脱アセチル化はヒストンを再び陽性に荷電させることでDNAと結合しやすくする。

[0078] ブドウ球菌にも様々なアセチル基含有物質が含まれており、驚くべきこと

に、これらの脱アセチル化により、これまでに得られていないエpiteopを得ることが可能となり、抗原に多様性を付加することができる。そのため、本願に記載の方法は、様々な新規抗体を得るためのスクリーニング系としても好適である。

脱アセチル化の手段としては、脱アセチル化が達成される限り、その手段には限定されるものではないが、例えば、酵素処理、アルカリ処理などが挙げられる。さらに、ブドウ球菌の細胞壁N-アセチルムラミン酸O-アセチル基が脱アセチル化される手段が好ましい。

[0079] そのような手段の一例として、アンモニア水を用いた脱アセチル化が挙げられる。アンモニア水による脱アセチル化は、例えば、ブドウ球菌をアンモニア水に懸濁し、攪拌することにより行うことができる。

アンモニア水の濃度は、脱アセチル化と非特異的変性作用との兼合いから5~30%が好ましく、脱アセチル化反応速度と非特異的変性作用との兼合いから10~15%がさらに好ましい。処理温度は、脱アセチル化と非特異的変性作用との兼合いから4~50℃が好ましく、脱アセチル化反応速度と非特異的変性作用との兼合いから30~40℃がさらに好ましい。処理時間としては、脱アセチル化と非特異的変性作用との兼合いから6~48時間が好ましく、脱アセチル化反応速度と非特異的変性作用との兼合いから12~24時間がさらに好ましい。さらに、アンモニア水処理では、攪拌を行うことが好ましい。

[0080] ブドウ球菌としては、抗原性を有する限り、何れの部位を用いてもよく、菌体そのものを用いてもよいが、好ましくは破砕したブドウ球菌が用いられ、より好ましくは細胞壁を多く含む画分が用いられる。破砕したブドウ球菌を、界面活性剤(Triton-X100)や蒸留水等で洗浄する工程を含んでもよい。細胞壁とは、植物(Plantae)、菌(Fungi)、古細菌(Archaea)、マイコプラズマを除く真正細菌(Bacteria)が持つ、細胞膜(細胞の内外を隔てる生体膜)の外側に存在し細胞を取り囲む構造物・被膜のことである。真正細菌の細胞壁は主にペプチドグリカ



ンから構成されており、ブドウ球菌を含むグラム陽性細菌の細胞壁は、ペプチドグリカン、細胞壁タイコ酸、細胞壁結合タンパク質などから構成されている。細胞壁としては、本発明の目的を達成できる限り、抗原性を有する形で、化学合成した成分を用いてもよい。

[0081] 細胞壁を用いる場合、抗原性を有する形で、目的の細胞壁を含むものなら何れを用いてもよいが、好ましくは、主成分として細胞壁を含むように精製された画分を用いることができる。グラム陽性細菌の細胞壁を精製する方法は、精製で得たい細胞壁の構成物質の種類や純度、許容しうる変性の程度により異なり、これに限定されるものではないが、例えば、1) ガラスビーズブレンダーや超音波処理などで物理的に細菌を破砕して遠心分離法等により細胞壁画分を得る方法（例えば、William Wiley Navarre, Hung Ton-That, Kym F. Faull, and Olaf Schneewind, 1998. Anchor structure of staphylococcal surface proteins II. COOH-terminal structure of muramidase and amidase-solubilized surface protein. *J. Biol. Chem.* 273, 29135-29142）、あるいは、2) 煮沸や酸、酵素などで化学的に細菌を分解して遠心分離法や濾過法等により細胞壁構成物質を得る方法（*新生化学実験講座17 微生物実験法* 日本生化学会編 東京化学同人1992）などを例示することができる。

[0082] これらのスクリーニングならびに製造方法において、ブドウ球菌としては黄色ブドウ球菌が好適に用いられ、黄色ブドウ球菌株としては、例えば、一般に強毒株とされている市中感染性の黄色ブドウ球菌MW2株などが好適に用いられる。

[0083] 上記何れかの態様の製造方法ならびにスクリーニング方法は、これに限定されるものではないが、以下に詳述する工程や実施態様等の、一または複数をさらに含んでもよい。

#### (1) 免疫

得られた抗原を哺乳動物へ投与して免疫を行う。抗原は、アジュバントと混合して用いられてもよい。哺乳動物としては、マウスが好適に用いられ、BALB/cマウスがさらに好適に用いられる。免疫は、同一の哺乳動物に

対し、単数回行われても、複数回行われてもよい。

## (2) スクリーニング

脾細胞より常法によりハイブリドーマを作製し、抗体価等所望の活性を指標に、スクリーニングを行う。脾細胞を得る前に、免疫した哺乳動物単位で、血清抗体価などの血清中の活性を指標にプレスクリーニングを行ってもよい。また、スクリーニングは、好ましくはELISAを用いて行われ、さらに好ましくは、ブドウ球菌CeII-ELISAを用いて行われる。

## [0084] (3) 大量調製

スクリーニングで選抜したハイブリドーマをマウス腹腔へ投与して腹水を産生させ、その抗体含有腹水を採取し、精製して、抗ブドウ球菌抗体を得る。好ましくは、マウスとしてはSCIDマウスが用いられる。精製には、好ましくはクロマトグラフィー、より好ましくはアフィニティークロマトグラフィー、例えばプロテインGアフィニティークロマトグラフィーなどが用いられる。

## (4) 組換え生産

スクリーニングで得られた抗体については、その抗体を産生するハイブリドーマからcDNAを得るなどにより、他の細胞において組換え体を製造することができ、このような態様も上記製造方法に含まれる。

得られたcDNAを用い、他の細胞において組換え体を製造する方法の詳細は、後述する。

[0085] 本発明のある態様は、上記何れかの態様の抗体をコードする核酸である。核酸は好ましくはDNAである。

上記何れかの態様の核酸は、常法により、単離し、配列決定することができる。これに限定されるものではないが、例えば、重鎖および／または軽鎖等を特異的に増幅するように設計したオリゴヌクレオチドプライマーを用いて配列決定することができる。また、単離された核酸は、クローニングおよび発現させるために原核または真核細胞へ遺伝子導入することができる。

[0086] また、本発明のある態様は、上記何れかの態様の核酸を含むベクターであ

る。典型的には、このベクターは、単離された上記何れかの態様の核酸を常法によりベクターに挿入することで得ることができる。ベクターは、好ましくは複製可能なベクターであり、さらに好ましくは作用可能に連結されたプロモーターを有するベクター（発現ベクター）である。ベクターは、これに限定されるものではないが、一般に、シグナル配列、複製起点、一または複数の選択遺伝子、プロモーター、エンハンサーエレメント、および転写終結配列のうちの一または複数の成分を含む。

[0087] また、本発明のある態様は、上記何れかの態様のベクターを含む宿主細胞である。

好適宿主細胞としては、原核生物、酵母、または高等真核生物細胞を挙げることができる。好適な原核生物は、限定するものではないが、真正細菌（例えばグラム陰性またはグラム陽性菌）が挙げられる。

ポリペプチド発現には、糸状菌または酵母菌のような真核微生物も好適に用いることができる。

高等真核生物細胞のうち、無脊椎動物細胞の例には植物および昆虫細胞が含まれる。

[0088] また、宿主細胞として脊椎動物細胞を用いることは一般的に行われており、有用な哺乳動物宿主株化細胞の例には、SV40によって形質転換されたサル腎臓CV1株（COS-7、ATCC CRL 1651）；ヒト胚腎臓株（HEK 293または懸濁培養での増殖のためにサブクローン化されたHEK 293細胞）；ハムスター乳児腎細胞（BHK、ATCC CCL 10）；マウスのセルトリ細胞（TM4）；サルの腎細胞（CV1、ATCC CCL 70）；アフリカミドリザルの腎細胞（VERO-76、ATCC CRL-1587）；ヒト子宮頸癌細胞（HELA、ATCC CCL 2）；イヌ腎細胞（MDCK、ATCC CCL 34）；バッファローラット肝細胞（BRL 3A、ATCC CRL 1442）；ヒト肺細胞（W138、ATCC CCL 75）；ヒト肝細胞（Hep G2、HB 8065）；マウス乳房腫瘍細胞（MMT 060562、ATCC CCL 51）；TRI

細胞；MRC5細胞；FS4細胞；およびヒト肝癌株（HepG2）が含まれる。他の有用な哺乳動物宿主細胞株には、DHFR-CHO細胞を含むチャイニーズハムスター卵巣（CHO）細胞；およびNS0およびSp2/0のようなミエローマ細胞株が含まれる。

[0089] また、本発明のある態様は、上記何れかの態様の宿主細胞を、核酸が抗体を発現する条件下で培養することを含む上記何れかの態様の抗体の製造方法である。

通常は抗体を産生しない宿主細胞（例えば、大腸菌細胞、サルCOS細胞、チャイニーズハムスター卵巣（CHO）細胞、またはミエローマ細胞）に上記何れかの態様の核酸を形質移入し、プロモーターを誘導し、適切な栄養培地中で培養することにより、その核酸によりコードされる抗体を産生させることができる。その後、例えば、宿主細胞ペーストから可溶性分画へと抗体を分離し、精製する（例えば、アイソタイプに応じてプロテインAまたはGカラムを用いる）ことにより、抗体を製造することができる。

[0090] 宿主細胞は種々の培地において培養することができる。市販培地では、例えば、HamF10（シグマ）、MEM（シグマ）、RPMI-1640（シグマ）およびDMEM（シグマ）が宿主細胞の培養に好適である。これらの培地には、ホルモンおよび／または他の増殖因子（例えばインスリン、トランスフェリン、上皮増殖因子）、塩類（例えば、塩化ナトリウム、カルシウム、マグネシウム、リン酸塩）、バッファー（例えばHEPES）、ヌクレオチド（例えばアデノシン、チミジン）、抗生物質（例えば、GENTAMYCIN）、微量元素（最終濃度がマイクロモル範囲で通常存在する無機化合物など）およびグルコースもしくは等価なエネルギー源を、必要に応じて補充することができる。他の必要な補充物質もまた当業者に知られている適切な濃度で含むことができる。好適な培養条件、例えば温度、pH等々は、それぞれの宿主細胞について、当業者には明らかであり、また単純な条件検討の範囲内である。

[0091] 組換え技術を用いる場合、抗体は細胞内、細胞膜周辺腔に産生されるか、

あるいは培地中に直接分泌される。

抗体が細胞内に産生された場合、第1の工程として、不要物（細胞細片など）を例えば遠心分離または限外濾過によって除去する。Carter et al., *Bio/Technology* 10: 163-167 (1992)は、大腸菌の細胞膜周辺腔に分泌された抗体の単離方法を記載している。簡単に述べると、細胞ペーストを、酢酸ナトリウム（pH 3.5）、EDTA、およびフェニルメチルスルホニルフルオリド（PMSF）の存在下で約30分間冷解凍を行う。細胞細片は遠心分離で除去できる。

抗体が培地中に分泌される場合は、そのような発現系からの上清を、一般的にはタンパク質濃縮フィルター（例えばAmiconもしくはPelliconの限外濾過フィルター）を用いて濃縮する。PMSFなどのプロテアーゼ阻害剤を上記の任意の工程に含めることで、タンパク質分解を阻害してもよく、また抗生物質を用いることで外来性の汚染生物の増殖を防止してもよい。

[0092] 細胞から調製した抗体組成物は、例えば、ヒドロキシアパタイトクロマトグラフィー、疎水性相互作用クロマトグラフィー、ゲル電気泳動、透析、およびアフィニティークロマトグラフィーを用いて精製できるが、典型的には、アフィニティークロマトグラフィーが好ましい精製工程である。アフィニティリガンドとしてのプロテインA/Gの適合性は、抗体中に存在する免疫グロブリンFc領域の種およびアイソタイプに依存する。プロテインAは、ヒト $\gamma$ 1、 $\gamma$ 2、または $\gamma$ 4重鎖に基づく抗体の精製に用いることができる。プロテインGは、全てのマウスアイソタイプおよびヒト $\gamma$ 3を含む全てのヒト $\gamma$ 重鎖に好適に用いることができる。アフィニティリガンドが結合されるマトリクスはアガロースであることが最も多いが、他の材料も使用可能である。孔制御ガラスやポリ（スチレンジビニル）ベンゼン等の機械的に安定なマトリクスは、アガロースで達成できるものより早い流量および短い処理時間を可能にする。抗体がC<sub>H</sub>3ドメインを含む場合、Bakerbond ABX樹脂（J. T. Baker, Phillipsburg, NJ）

が精製に有用である。イオン交換カラムでの分画、エタノール沈殿、逆相HPLC、シリカでのクロマトグラフィー、ヘパリンでのクロマトグラフィー、アニオンまたはカチオン交換樹脂上でのSEPHAROSEクロマトグラフィー（ポリアスパラギン酸カラム）、クロマトフォーカシング、SDS-PAGE、および硫酸アンモニウム沈殿法も、回収される抗体に応じて利用可能である。

上述した予備的精製工程に続いて、目的の抗体および混入物を含む混合液に、例えば、pH約2.5-4.5、好ましくは低塩濃度（例として、約0-0.25M塩）の溶出緩衝液を用いた低pH疎水性相互作用クロマトグラフィーを施してもよい。

[0093] [組成物]

本発明の他の態様は、上記何れかの態様の抗体を含む組成物である。

本発明の更なる態様は、ZBIA5H系列抗体と、他の抗ブドウ球菌抗体とを含む組成物である。他の抗ブドウ球菌抗体としては、ZBIA3H系列抗体が好ましい。

ZBIA5H系列抗体は、他の抗ブドウ球菌抗体（例えば、ZBIA3H系列抗体）と併用することで、それぞれの単独投与よりも更に優れたブドウ球菌感染症の治療または予防効果を奏することができるため、上記態様の組成物は特に効果的である。

[0094] 上記何れかの態様の組成物は、好ましくは薬学的組成物（あるいは医薬）であり、さらに好ましくは、ブドウ球菌感染症の治療または予防のための薬学的組成物（あるいは医薬）である。また、この組成物は、好ましくは、薬学的に許容される担体を含む。また、組成物は、製剤の形であってもよく、さらに、二つ以上の活性成分を含む場合は、合剤/配合剤であってもよい。

上記何れかの態様の組成物は、本発明の効果を損なわない範囲で、凍結乾燥形態あるいは溶液形態等の何れであってもよいが、凍結乾燥形態で提供されることが好ましい。凍結乾燥品の場合、使用時に、薬学的に許容される水性担体（例えば、注射用滅菌水または滅菌生理食塩水）に溶解する。

[0095] 薬学的に許容される担体は、水、油（石油、動物油、植物油、落花生油、大豆油、鉱油、ゴマ油などを含む）などの滅菌された／無菌の液体であってよい。食塩水（特に生理的食塩水）、デキストロース水溶液、およびグリセロール溶液もまた、液体担体（特に注射溶液用の液体担体）として使用することができる。好適な薬学的に許容される担体は、Remington's Pharmaceutical Sciences, 第18版を参照のこと。

[0096] さらに、上記何れかの態様の組成物は、各種の送達用媒体および／または担体を含んでいてもよい。そのような媒体は、保存および投与（これに限定されるものではないが、皮膚、創傷、眼、肺、鼻粘膜または胃腸管粘膜への適用を含む）、または鼻孔への吸入もしくは通気の際の活性成分の半減期を増大させることができる。担体は、これに限定されるものではないが、天然ポリマー、半合成ポリマー、合成ポリマー、リポソーム、または半固形剤形などが含まれる。天然ポリマーとしては、例えば、タンパク質および多糖が挙げられる。半合成ポリマーは修飾された天然ポリマーであり、例えば、キトサン（天然多糖の脱アセチル化形態）、キチンが挙げられる。合成ポリマーとしては、例えば、ポリホスホエステル、ポリエチレングリコール、ポリ乳酸、ポリスチレンスルホネート、およびポリラクチドグリコリドが挙げられる。半固形の剤形としては、例えば、デンドリマー、クリーム、軟膏、ジェルおよびローションが挙げられる。また、これらの担体は、組成物をマイクロカプセル化するのに用いることも可能であり、あるいは活性成分（例えば抗体）に共有結合されていてもよい。

[0097] 上記何れかの態様の組成物は、後述する用途（例えば、ブドウ球菌感染症の治療用途および／または予防用途）に使用するための組成物であってよい。

また、上記何れかの態様の組成物は、対応する医薬であってよい。

なお、上記何れかの態様の抗体が、前述または後述する他の薬剤または抗ブドウ球菌抗体と併用される場合、それら併用された二剤が体内で（*in situ*）組成物を形成する場合も、上記何れかの態様の組成物に含まれる

。

[0098] 〔製造品〕

本発明の他の態様は、（a）容器；（b）パッケージ挿入物および／または前記容器上のラベル；および（c）容器内に収容された上記何れかの態様の抗体を含む組成物または上記何れかの態様の組成物を含んでなり、パッケージ挿入物および／または前記容器上のラベルの少なくとも一つの当該組成物がブドウ球菌感染症の治療または予防に使用できることを表示する製造品である。

[0099] 好適な容器には、例えば、ビン、バイアル、シリンジ等々が含まれる。容器は、様々な材料、例えばガラスまたはプラスチックから形成され得る。容器は、組成物を収容しており、滅菌アクセスポートを有していてもよい（例えば、容器は皮下注射針が貫通可能なストッパーを有するバイアルまたは静脈内投与溶液バッグであってよい）。パッケージ挿入物および／またはラベルは、組成物がブドウ球菌感染症の治療または予防に使用され得ることを示す。さらに、製造品は、（a）組成物の中に収容する第一の容器；と（b）更なる組成物（上記何れかの形態に含まれる他の組成物、あるいは上記何れかの形態に含まれない他の組成物）または薬剤等の中に収容する第二の容器とを含む実施態様であってもよく、このような形態も本発明の製造品に含まれる。付加的に、製造品は、薬学的に許容されるバッファー（これに限定されるものではないが、例えば、注射用の滅菌蒸留水、滅菌生理食塩水、リン酸緩衝生理食塩水、リンガー液またはデキストロース溶液等）を含む第二または第三の容器をさらに含んでもよい。また、さらに、商業上および使用者の見地から望ましい他の構成（これに限定されるものではないが、例えば、他のバッファー、希釈剤、フィルター、針、および／またはシリンジ）を含んでもよい。

[0100] 〔治療・予防方法ならびに医薬〕

本発明の他の態様は、治療または予防対象に上記何れかの態様の抗体または組成物を投与することを含む、ブドウ球菌感染症の治療または予防方法で



ある。

また、本発明の他の態様は、上記何れかの態様の抗体または組成物を含む、ブドウ球菌感染症を治療または予防するための医薬である。

また、本発明の他の態様は、上記何れかの態様の抗体または組成物の、ブドウ球菌感染症の治療または予防のための医薬の製造における使用である。

また、本発明の他の態様は、ブドウ球菌感染症の治療または予防に使用するための上記何れかの態様の抗体または組成物である。

簡便のために、以下、これらの態様を医薬用途態様と総称する。

[0101] 上記医薬用途態様によれば、ブドウ球菌感染症の治療または予防効果を得ることができる。治療または予防対象は、特に限定されるものではないが、好ましくは哺乳動物、さらに好ましくはヒトである。また、治療対象は、好ましくは、ブドウ球菌に感染している、または感染していると疑われる対象である。対象のブドウ球菌感染症は、前述したものを含め、特に限定されるものではないが、好ましくは菌血症、敗血症、肺炎、心内膜炎、骨髓炎、関節炎、髄膜炎、腸炎、化膿性皮膚疾患、尿路感染及び医療デバイス・インプラント関連感染、より好ましくは菌血症、敗血症、肺炎に対し、治療または予防効果を挙げることができる。対象のブドウ球菌種は、前述したものを含め、特に限定されるものではないが、黄色ブドウ球菌、表皮ブドウ球菌、腐性ブドウ球菌、*Staphylococcus haemolyticus*が挙げられ、特に好適な対象として黄色ブドウ球菌が挙げられる。対象の黄色ブドウ球菌株は、前述したものを含め、特に限定されるものではないが、好ましくはUSA100株、USA300株、COL株、HIP5827株、N315株、MW2株及びVRS1株、より好ましくはMW2株及びVRS1株に対し、治療または予防効果を挙げることができる。

[0102] また、上記医薬用途態様は、好ましくは、薬剤耐性ブドウ球菌に対し、効果を奏することができる。例えば、これに限定されるものではないが、メチシリン耐性ブドウ球菌に対しても、本発明の医薬用途態様は効果を挙げることができるため、バンコマイシン（血液透析を受ける腎疾患患者には慎重投

与)の制限下では、その代替医薬として期待される。さらに、バンコマイシン耐性ブドウ球菌に対しても、治療または予防効果を奏することができる。

また、従来のブドウ球菌ワクチンでは、ブドウ球菌が常在菌であるため、免疫されにくく、さらに、対象患者が免疫不全の場合(ブドウ球菌感染症の患者には免疫不全が少なくない)、十分に免疫されないといった改善点が存在した。上記医薬用途態様は、これらの点については改善されており、少なくとも一側面において、従来型のワクチンよりも有用となり得る。

[0103] 本発明の更なる態様は、Z B I A 5 H系列抗体が、他の抗ブドウ球菌抗体と併用される、上記態様の医薬用途態様である。他の抗ブドウ球菌抗体としては、これに限定されるものではないが、例えば、Z B I A 3 H系列抗体やそのアナログなどが考えられる。

Z B I A 5 H系列抗体は、単独使用に比べて、他の抗ブドウ球菌抗体(特にZ B I A 3 H系列抗体あるいはそのアナログ)と組み合わせて使用する際に、さらに優れた効果を奏することができる。

併用は、二抗体の同時投与でも、何れかの抗体の投与が前後となってもよく、2以上の抗体は同一製剤または別個の製剤の何れの製剤形態をとって提供されてもよい。

本発明と併用することのできる活性成分は、上記態様(他の抗ブドウ球菌抗体)に限られるものではなく、例えば、抗菌性物質等、他の薬剤(例えば、バンコマイシン、テイコプラニン、アルベカシン、リネゾリド、ダプトマイシン、イミペネム、ノルフロキサシン、ゲンタマイシンなど)やアジュバントと併用してもよい。

[0104] 上記医薬用途態様において、発明の効果が損なわれない限り、投与経路は限定されるものではなく、例えば、静脈内、腹腔内、体内注射、関節内、脳室内、髄腔内、筋肉内もしくは皮下注射、または鼻腔内、皮膚、皮内、膈内、経口、または他の有効な投与方法により投与可能である。また、例えば特定の感染領域への筋肉内または皮下注射により局所的に投与してもよい。さらに、スワブ適用、液浸、浸漬、または拭取により患者に直接投与してもよ

い。さらに、留置カテーテル、心臓弁、脳脊髄液シャント、関節プロテーゼ、その他のインプラントなどの身体内に埋め込まれる器具や装置、またはグラム陽性細菌により感染する危険があるその他の用具または器具等にも適用することができる。

[0105] 上記医薬用途態様においては、本発明の薬剤は調製された後、1回分に分けて、投与される。投与において考慮すべき要因としては、治療する疾患、投与する薬剤（抗体）、投与対象の臨床状態（重症度および経過など）、投与対象の薬剤への応答性、投与対象の病歴・治療歴、疾患の原因、薬剤の運搬部位、投与の方法、投与の日程計画、予防か治療の何れであるか、担当医師の判断および他の因子などが挙げられる。また、他の薬剤等と併用する場合、他の薬剤等の有効量は、本発明の薬剤の投与量に加え、上記各因子によっても左右され得る。これに限定されるものではないが一般的に、以下に記載されるものと同じ用量および投与経路か、あるいは経験的／臨床的に適切と判断される任意の用量及任意の投与経路で、上記医薬用途態様は実施される。

[0106] 適切な投与計画は、既知の技術知識、本明細書で提供される情報および処置される個々の被検体についての経験に基づいて決定することができる。通常、医薬用途形態においては、危険または有害な副作用を起こすことなく効果的な結果を生じ得る濃度で活性成分（抗体など）が投与されることが好ましい。

[0107] 典型的には、上記因子を考慮の上、約1 mg/kg～1,000 mg/kgの抗体を、例えば1回あるいは2～3回またはそれ以上の分割投与または連続注入による患者投与の初期候補用量とすることができる。血管への注射を目的とした場合、患者の症状、年齢、体重などによって異なるが、一例として、体重60 kgの成人に対しては、1日量として60～60,000 mgを、1回あるいは2～3回またはそれ以上に分割して投与することができる。ある典型的な1日量は、さらに上記の因子に応じて、約100 mg～5,000 mgである。症状に応じて、数日間以上にわたる繰り返し投与は、通常

、所望の疾患症状の抑制が得られるまで持続する。このような用量は、間欠的に、例えば3日ごとまたは1週ごとまたは3週ごとに投与してもよい。初期のより高い負荷投与量の後、一以上のより低い用量を投与してもよい。胸腔内、腹腔内、髄腔内などの体腔内に投与する場合や膀胱内などの局所部位への投与の場合は、患者の症状によって異なるが、1日量として10mg～5,000mgを、1回あるいは2～3回またはそれ以上に分割して投与することができる。

典型的な投与例を上を示したが、本発明はこれに限定されるものではない。

これらの治療の進行は、通常の診断やアッセイ等により簡便にモニターすることができる。

[0108] 上記医薬用途態様において、本発明の薬剤が固定用量で製剤化される場合、上記の用量範囲内の抗体等が好適に用いられ得る。また、組み合わせ製剤（合剤、配合剤）としては、上記の用量範囲内の抗体等と、認可された用量範囲内の他の医薬的に活性な薬剤とが用いられる。組み合わせ製剤が適切でない場合、抗体等は、認可された用量範囲内の他の医薬的に活性な薬剤と、連続して用いられてよい。

なお、ブドウ球菌感染症では、しばしば抗菌薬の投与のみでは十分ではないことがあるため、本発明の薬剤も、必要に応じて、病巣に対する外科的処置（人工弁の入れ替え、カテーテル抜去、関節腔の切開排膿など）と併用してよい。

[0109] なお、上記何れかの態様においては、最も典型的には、临床上重要なブドウ球菌である黄色ブドウ球菌を対象とすることができる。さらに、ブドウ球菌として黄色ブドウ球菌を選択した際には、本発明はその優れた効果をより確実に奏することができる。

[0110] 以上、本発明の実施形態について述べたが、これらは本発明の例示であり、上記以外の様々な構成を採用することもできる。

例えば、上記何れかに記載の態様において、Z B I A 3 H（系列）抗体の

代わりに、またはZ B I A 3 H（系列）抗体と組み合わせて、Z B I A 9 H（系列）抗体を用いてもよい。Z B I A 9 H系列抗体は、好ましくはZ B I A 9 H抗体と同一のCDRを含む。Z B I A 9 H（系列）抗体では、Z B I A 3 H（系列）抗体における配列番号：9、10、11、12、13、14、15および16のアミノ酸配列の代わりに、それぞれ配列番号17、18、19、20、21、22、23および24のアミノ酸配列が用いられる。

[0111] さらに、例えば、上記実施の形態は、ブドウ球菌感染症治療・予防薬としての医薬品用途を中心に説明したが、特にこれに限定する趣旨ではない。本発明は、ブドウ球菌感染症治療・予防薬としての医薬品用途の他にも、例えば、ブドウ球菌感染症の診断、ブドウ球菌の検出、ブドウ球菌による食中毒防止、動物薬、研究試薬などの幅広い用途が想定されるものであり、それらの用途を排除することを意図するものではない。

## 実施例

[0112] 以下、実施例により、本発明を説明するが、これらの実施例は本発明を限定するものではない。なお、実施例で言及されている市販試薬は、特に示さない限りは製造者の使用説明もしくは定法に従い使用した。

[0113] [実施例1]

ブドウ球菌に対するモノクローナル抗体の調製

免疫抗原の調整

黄色ブドウ球菌MW2株をT r y p t i c S o y B r o t h（BD社、以下TSB）で対数増殖後期にまで培養し、遠心回収後、ガラスビーズブレンダーで破碎した。T r i t o n - X 1 0 0および蒸留水で洗浄後、遠心回収してこれを細胞壁精製物とした。免疫原性を高め、多様な抗体を産生しやすくするために、12.5%アンモニア水に懸濁して37℃で16時間攪拌することで、N-アセチルムラミン酸O-アセチル基の脱アセチル化処理を行った（脱アセチル化細胞壁精製物：免疫抗原）。

[0114] 免疫

免疫抗原2mg/mL、20mg/mLおよび200mg/mLと等量の

フロイント完全アジュバント（以下FCA）もしくはフロイント不完全アジュバント（以下FIA）と混合してエマルジョンを作製し、これを免疫原とした。

雌性BALB/cマウス（日本チャールス・リバー（株））の腹腔へ、初回免疫時は免疫抗原とFCAとのエマルジョンを0.2mLずつ投与し（投与抗原量0.2mg、2mgおよび20mg、各群5匹）、以降4次免疫まではFIAとのエマルジョンを2週間毎に同様に投与した。

初回免疫の1週間前と各免疫の1週間後に尾静脈より採血し、血清中の抗ブドウ球菌抗体の抗体価を黄色ブドウ球菌固相化Cell-ELISAで測定した。抗体価は追加免疫毎に上昇し、概ね投与抗原量が多い個体（抗原20mg投与群）で高い抗体価が得られた（図1、20mg-1、2、3、4、5）。

そして個体20mg-2に、最終免疫として抗原5mgを静脈内に投与した。

#### [0115] 黄色ブドウ球菌固相化Cell-ELISA

増殖可能な感染性のあるブドウ球菌と実際に結合できる抗体を検出するため、抗ブドウ球菌抗体の結合性測定は、生きた菌体そのままを固相化した黄色ブドウ球菌固相化Cell-ELISAで行った。

TSBで30℃16時間静置培養したプロテインAノックアウトOS2株を遠心回収してダルベッコリン酸緩衝生理食塩液（-）（以下PBS）で3回洗浄し、 $A_{600} = 0.1$ 程度に濃度を調整した。

[0116] これを96穴ELISAプレート（Nunc社、Maxisorp）に各ウェルあたり100 $\mu$ Lずつ分注し、4℃で6時間静置することで菌体を固相化した。そしてPBSで3回洗浄後、1%ウサギ血清/PBSを各ウェルに300 $\mu$ Lずつ加えて4℃で16時間静置し、ブロッキングを行った。さらに0.05%Tween20/PBSで3回洗浄後、免疫マウス血清もしくはハイブリドーマ培養上清100 $\mu$ L/ウェルを加えて30℃で2時間静置した。再び0.05%Tween20/PBSで3回洗浄した後、2次抗

体としてヤギHRP標識F(ab')<sub>2</sub>抗マウスIgG+IgM(Biosource社)もしくはヤギHRP標識F(ab')<sub>2</sub>抗マウスIgG(γ)(KPL社)を100μL/ウェル添加し、30℃で2時間静置した。そして0.05%Tween20/PBSで3回洗浄後、基質としてABTSを100μL/ウェル加えて発色させ、A<sub>405</sub>をマイクロプレートリーダーで測光して抗ブドウ球菌抗体量を測定した。

[0117] 陽性対照1次抗体に抗ブドウ球菌マウスモノクローナル抗体(アイソタイプ: IgG3、QED、Bioscience社)、陰性対照にマウスIgG(Chemicon社)および正常マウス血清を用いたこのELISAシステムで、陽性対照の特異的抗体を0.1~10μg/mLの濃度範囲で検出が可能であった。

[0118] 抗ブドウ球菌抗体産生ハイブリドーマの作製

最終5次免疫から3日後に脾細胞を採取し、ポリエチレングリコールを用いてマウスミエローマ培養細胞株SP2/O細胞と細胞融合させ、常法に従いハイブリドーマを得た。

ハイブリドーマ培養上清中の抗ブドウ球菌IgGおよびIgM抗体を黄色ブドウ球菌固相化Cell-ELISAで測定した結果、1002ウェル中の106ウェルで黄色ブドウ球菌に結合親和性を有する抗体が検出された。このうちのA<sub>405</sub>>2の30ウェルをクローニングに供し、黄色ブドウ球菌固相化Cell-ELISA(IgG検出)によるスクリーニングと限界希釈法によるクローニングを繰り返すことで、抗ブドウ球菌抗体を産生する22種のハイブリドーマを得た。

[0119] モノクローナル抗体の精製

In vivoスクリーニングへ供するモノクローナル抗体試料を調製するにあたり、数mg/mL程度の抗体含有量が期待できるハイブリドーマ腹水からの精製・調製を行った。

対数増殖期に達したハイブリドーマ5×10<sup>6</sup>個を、遺伝的・機能的にB細胞およびT細胞を欠損し免疫グロブリンを持たないSCIDマウス(日本

クレア（株）の腹腔に投与し、1～2週間後、貯留した腹水を採取して－70℃に凍結保存した。

[0120] 融解後、これを20%飽和硫酸溶液にして塩析によりフィブリンタンパク等を除去し、次にその上清を50%飽和硫酸溶液にして再び塩析し、得られた沈殿を20mMリン酸ナトリウム含有生理食塩液（pH7.0）に溶解した。これを0.45μmフィルターにてろ過後、セファデックスG25カラム処理にて20mMリン酸緩衝生理食塩液へのバッファー交換を行い、得られた溶出サンプル溶液をプロテインGアフィニティーカラムへ結合させた。結合抗体の溶出は0.1Mグリシン含有生理食塩液（pH2.7）で行い、溶出した精製抗体溶液を直ちに中性化した。そしてこの精製抗体溶液を遠心分離限外濾過ユニット（セントリコンプラス20 PL-100、日本ミリポア（株））を用いてPBSへのバッファー交換および濃縮を行い、0.45μmフィルターにてろ過後、A<sub>280</sub>より5mg/mL濃度の精製抗体溶液を調製し、－70℃にて凍結保存した。

[0121] モノクローナル抗体とブドウ球菌との結合親和性

抗ブドウ球菌抗体とブドウ球菌との結合親和性を、ELISAの反応性で調べた。

各精製抗体の黄色ブドウ球菌固相化Cell-ELISAでの反応性を調べたところ、その添加濃度と反応性との関係から4つのグループが認められた（図2）。第一に、ZBIA6H、8H、10H、11Hおよび12H精製抗体が示す極めて結合親和性が高いグループ、第二にZBIA2H、4Hおよび14H精製抗体が示す第一のグループに次いで結合親和性が高いグループ、第三にZBIA1H、3H、5H、7H、9H、13H、15H、16H、17H、19H、20H、21Hおよび22Hが属する中程度の結合親和性を示すグループ、第四に結合親和性が弱いZBIA18Hの、4グループであった。

[0122] [実施例2]

抗ブドウ球菌抗体の交差反応性



凍結保存してある表皮ブドウ球菌 ATCC 12228 株を TSB で 37℃ 16 時間振とう培養し、この培養液を新鮮な TSB に 1/100 量添加してさらに 37℃ 4 時間振とう培養してこれを遠心回収し、PBS で 3 回洗浄後  $A_{600} = 0.1$  程度に濃度を調整した。これを 96 穴 ELISA プレート (Nunc 社、Maxisorp) に各ウェルあたり 100  $\mu$ L ずつ分注し、4℃ で 6 時間静置することで菌体を固相化した。そして PBS で 3 回洗浄後、1% ウサギ血清/PBS を各ウェルに 300  $\mu$ L ずつ加えて 4℃ で 16 時間静置し、ブロッキングを行った。さらに 0.05% Tween 20/PBS で 3 回洗浄後、ZBA5H 抗体もしくは ZBA3H 抗体溶液 100  $\mu$ L/ウェルを加えて 30℃ で 2 時間静置した。再び 0.05% Tween 20/PBS で 3 回洗浄した後、2 次抗体としてヤギ HRP 標識 F(ab')<sub>2</sub> 抗マウス IgG ( $\gamma$ ) (KPL 社) を 100  $\mu$ L/ウェル添加し、30℃ で 2 時間静置した。そして 0.05% Tween 20/PBS で 3 回洗浄後、基質として ABTS を 100  $\mu$ L/ウェル加えて発色させ、 $A_{405}$  をマイクロプレートリーダーで測光して表皮ブドウ球菌に交差反応性を示す抗体量を測定した。

その結果、上記抗体は、表皮ブドウ球菌にも結合親和性を示した (図 3)

。

#### [0123] [実施例 3]

市中感染 MRSA マウス敗血症モデルへの効果

雌性 BALB/c マウス 7 週齢の腹腔に黄色ブドウ球菌 MW2 株  $8 \times 10^8$  個/0.5 mL PBS および被験物質 0.2 mL (PBS、1 mg 抗ブドウ球菌抗体、1 mg マウス IgG) を投与し、生存数を観察した。

その結果、ZBA5H 抗体および ZBA3H 抗体が、PBS 投与群に対して有意な延命作用を示した (フィッシャーの正確確率検定、図 4、5)

。

また、ZBA5H 抗体 0.5 mg と ZBA3H 抗体 0.5 mg との同時投与群は、ZBA5H 抗体 1 mg あるいは ZBA3H 抗体 1 mg 単独

投与群より優れた延命効果を示した（図6）。

[0124] 〔実施例4〕

バンコマイシン高度耐性MRSAマウス敗血症モデルへの効果

雌性BALB/cマウス7週齢の腹腔に黄色ブドウ球菌VRS1株 $2-3 \times 10^9$ 個/0.5mL PBSおよび被験物質0.2mL（PBS、1mg抗ブドウ球菌抗体、1mgマウスIgG、1mg塩酸バンコマイシン（VCM））を投与し、生存数を観察した。

その結果、ZBA5H抗体およびZBA3H抗体が、PBS投与群およびVCM投与群に対して有意な延命作用を示した（フィッシャーの正確確率検定、図7）。

[0125] 〔実施例5〕

市中感染MRSAマウス肺炎モデルへの予防効果

実施例3市中感染MRSAマウス敗血症モデルで用いた黄色ブドウ球菌MW2株は、壊死性肺炎を起こすことが知られている（非特許文献5）。そこで実施例3および4で有効であったZBA5H抗体およびZBA3H抗体の肺炎への有効性を明らかにするため、肺炎予防実験を試みた。

被験物質0.2mL（PBS、1mg抗ブドウ球菌抗体、1mg塩酸バンコマイシン（VCM））を尾静脈内へ投与し、その1時間後に黄色ブドウ球菌MW2株 $4 \times 10^8$ 個/40 $\mu$ L PBSを雌性BALB/cマウス7週齢に経鼻投与して肺に感染させ、感染4日後に肺を摘出してホモジナイザーで懸濁してマンニット食塩寒天培地平板へ塗布し、37 $^{\circ}$ Cで36時間培養して出現したコロニー数を計測して、これを肺感染菌数とした。

得られた結果をウイルコクソンの順位和検定で統計学的解析を行ったところ、ZBA5HおよびZBA3H抗体投与群はPBS投与群に対し、有意に肺感染菌数が減少していた（図8、9）。

[0126] 〔実施例6〕

市中感染MRSAマウス肺炎モデルへの治療効果

実施例5にてZBA5HおよびZBA3H抗体の肺炎予防効果が確認

されたため、次に治療実験を試みた。

黄色ブドウ球菌MW2株  $4 \times 10^8$  個 /  $40 \mu\text{L}$  PBSを雌性BALB/cマウス7週齢に経鼻投与し、肺に細菌を感染させ、3日後に被験物質O.2 mL (PBS、1 mg 抗ブドウ球菌抗体、1 mg マウスIgG、1 mg 塩酸バンコマイシン (VCM)) を尾静脈内へ投与した。

黄色ブドウ球菌投与5日後 (被験物質投与2日後) に肺を摘出してホモジナイズし、懸濁液をマンニット食塩寒天培地平板へ塗布した。これを  $37^\circ\text{C}$  で36時間培養して出現したコロニー数を計測し、肺感染菌数とした。

得られた結果をウイルコクソンの順位和検定で統計学的解析を行ったところ、ZBIA5H、ZBIA3H抗体およびVCM投与群はPBS投与群に対し、有意に肺感染菌数が減少していた (図10、11)。

[0127] 以上の実験から、これら抗体がブドウ球菌感染症の予防もしくは治療に有用であることが確認された。

[0128] [実施例7]

抗体可変領域のクローニング

ZBIA5H抗体およびZBIA3H抗体可変部遺伝子は、5' - RACE (Rapid Amplification of cDNA Ends) 法により得た。

まず、ZBIA5H抗体およびZBIA3H抗体産生ハイブリドーマより全RNAを抽出し、オリゴdTプライマー (Invitrogen) を用いて逆転写酵素 (SuperScript II, Invitrogen) にてcDNAを合成した。dCTP (タカラバイオ) 存在下、TdT (Terminal Deoxynucleotidyl Transferase、東洋紡またはタカラバイオ) にてcDNAの3' -末端にdCTP (Cテール) を付加し、これを鋳型としてCテールと相補的な配列を持つオリゴdGプライマーとマウス $\kappa$ 鎖遺伝子特異的プライマーまたはマウス重鎖遺伝子特異的プライマーとを用いたPCR法により、ZBIA5H抗体およびZBIA3H抗体重鎖および軽鎖可変部遺伝子を増幅した。各増幅産物をp3Tベ

クター (M o B i T e c) にサブクローニングし、導入遺伝子の塩基配列を確認した。重鎖および軽鎖の可変部アミノ酸配列を図12および図13に示す。

[0129] ハイブリドーマの寄託

以下の抗体を産生するハイブリドーマをそれぞれ独立行政法人製品評価技術基盤機構特許微生物寄託センター（千葉県木更津市かずさ鎌足2-5-8）に国際寄託（ブダペスト条約に基づく）した：

抗体	ハイブリドーマ受託番号	原寄託日	国際寄託への移管日
Z B I A 5 H	N I T E B P - 1 3 6 7	2 0 1 2 年 5 月 2 9 日	2 0 1 2 年 6 月 2 5 日
Z B I A 3 H	N I T E B P - 1 3 6 6	2 0 1 2 年 5 月 2 9 日	2 0 1 2 年 6 月 2 5 日

[0130] 以上、発明を実施するための形態の記載により説明される各種の形態は、本発明を限定するものではなく、例示することを意図して開示されているものである。本発明の技術的範囲は、特許請求の範囲の記載により定められるものであり、当業者は、特許請求の範囲に記載された発明の技術的範囲において種々の設計的变化が可能である。

なお、本明細書に引用された特許、特許出願、および出版物の開示内容は全て、参照により本明細書に援用される。

### 受託番号

[0131] ハイブリドーマ (Z B I A 5 H) : N I T E B P - 1 3 6 7  
 ハイブリドーマ (Z B I A 3 H) : N I T E B P - 1 3 6 6

## 請求の範囲

- [請求項1] 脱アセチル化したブドウ球菌を免疫して得られる、ブドウ球菌感染症の治療または予防効果を有する抗ブドウ球菌抗体。
- [請求項2] 重鎖可変領域が、配列番号：1、2および3に示されるアミノ酸配列あるいは配列番号：9、10および11に示されるアミノ酸配列をそれぞれ含むCDRH1、2および3を含み、  
軽鎖可変領域が、配列番号：4、5および6に示されるアミノ酸配列あるいは配列番号：12、13および14に示されるアミノ酸配列をそれぞれ含むCDRL1、2および3を含む、請求項1に記載の抗体。
- [請求項3] 重鎖可変領域が、配列番号：1、2および3に示されるアミノ酸配列をそれぞれ含むCDRH1、2および3を含み、  
軽鎖可変領域が、配列番号：4、5および6に示されるアミノ酸配列をそれぞれ含むCDRL1、2および3を含む、請求項2に記載の抗体。
- [請求項4] 配列番号：7に示されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域と、配列番号：8に示されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域とを含む、請求項3に記載の抗体。
- [請求項5] 重鎖可変領域が、配列番号：9、10および11に示されるアミノ酸配列をそれぞれ含むCDRH1、2および3を含み、  
軽鎖可変領域が、配列番号：12、13および14に示されるアミノ酸配列をそれぞれ含むCDRL1、2および3を含む、請求項2に記載の抗体。
- [請求項6] 配列番号：15に示されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域と、配列番号：16に示されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域とを含む、請求項5に記載の抗体。
- [請求項7] 黄色ブドウ球菌と結合することのできる、請求項1ないし6の何れか一項に記載の抗体。

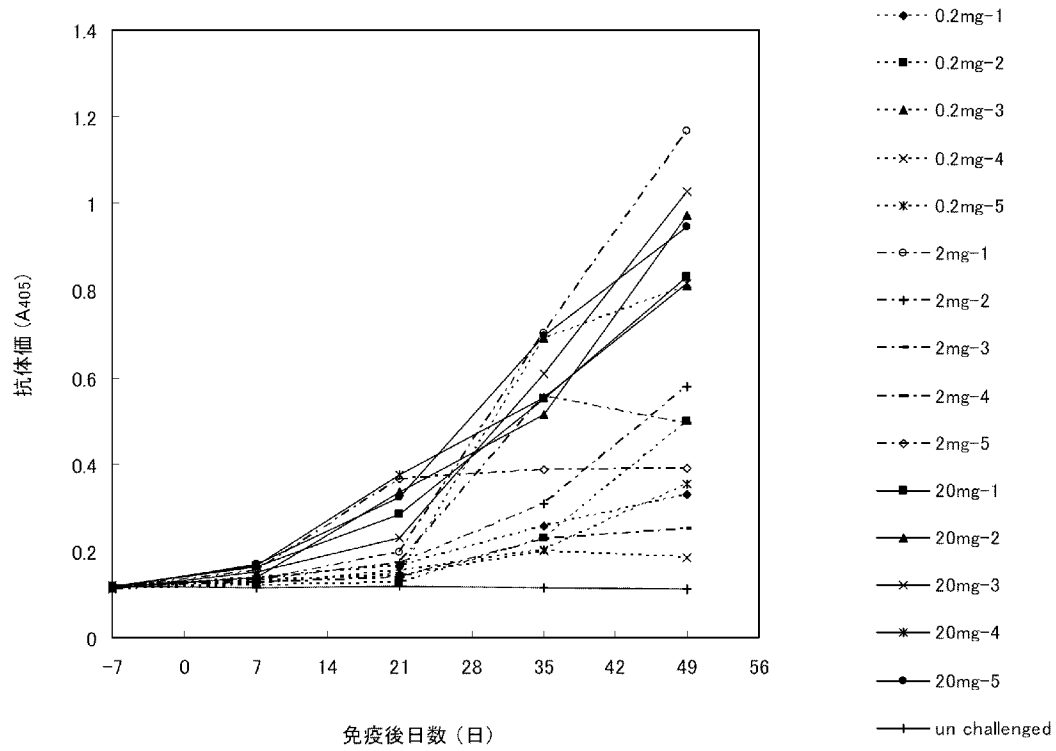
- [請求項8] 更に、表皮ブドウ球菌と結合することのできる、請求項1ないし7の何れか一項に記載の抗体。
- [請求項9] 抗体断片である、請求項1ないし8の何れか一項に記載の抗体。
- [請求項10] キメラ抗体、ヒト化抗体またはヒト抗体である、請求項1ないし9の何れか一項に記載の抗体。
- [請求項11] 受託番号：N I T E B P-1 3 6 7または受託番号：N I T E B P-1 3 6 6で寄託されたハイブリドーマにより産生される抗体。
- [請求項12] 請求項11に記載の抗体由来の抗体断片、キメラ抗体、ヒト化抗体またはヒト抗体。
- [請求項13] 抗菌物質とコンジュゲートした請求項1ないし12の何れか一項に記載の抗体。
- [請求項14] 前記抗菌物質が、抗生剤、合成抗菌剤、溶菌酵素または抗菌ペプチドである請求項13に記載の抗体。
- [請求項15] 請求項1ないし12の何れか一項に記載の抗体をコードする核酸。
- [請求項16] 請求項15に記載の核酸を含むベクター。
- [請求項17] 請求項16に記載のベクターを含む宿主細胞。
- [請求項18] 請求項17に記載の宿主細胞を、前記核酸が前記抗体を発現する条件下で培養することを含む前記抗体の製造方法。
- [請求項19] 請求項1ないし14の何れか一項に記載の抗体を含む組成物。
- [請求項20] 請求項3または4に記載の抗体と請求項5または6に記載の抗体とを含む組成物。
- [請求項21] (a) 容器；  
(b) パッケージ挿入物および／または前記容器上のラベル；および  
(c) 前記容器内に収容された請求項19または20に記載の組成物を含んでなり、パッケージ挿入物および／または前記容器上のラベルの少なくとも一つの当該組成物がブドウ球菌感染症の治療または予防に使用できることを表示する製造品。
- [請求項22] 請求項1ないし14の何れか一項に記載の抗体あるいは請求項19

または 20 に記載の組成物を含む、ブドウ球菌感染症の治療または予防のための医薬。

[請求項23] 請求項 3 または 4 に記載の抗体と請求項 5 または 6 に記載の抗体とが併用して用いられる、請求項 22 に記載の医薬。

[請求項24] 脱アセチル化したブドウ球菌により哺乳動物を免疫し、該哺乳動物から抗体産生細胞を得ることを含む、ブドウ球菌感染症の治療または予防効果を有する抗ブドウ球菌抗体の製造方法。

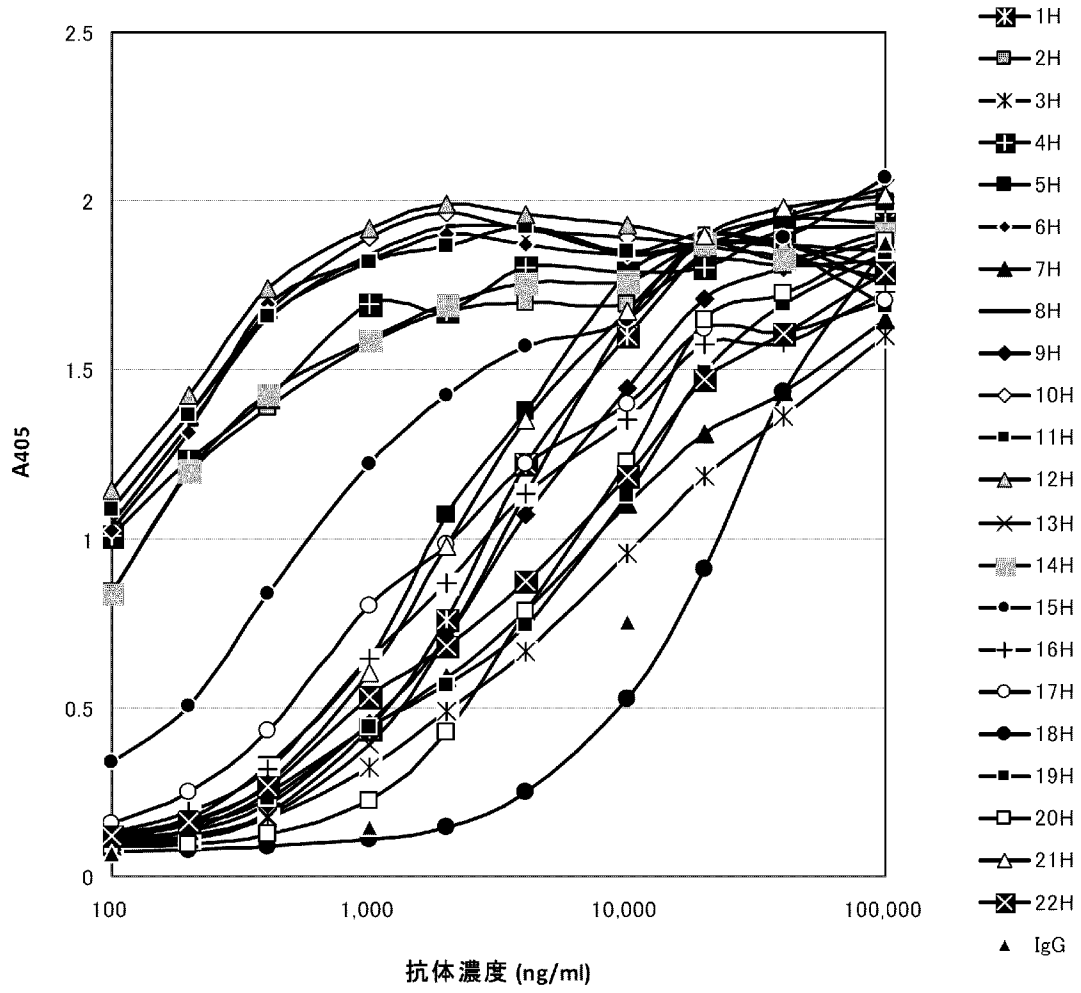
[図1]



黄色ブドウ球菌への血清抗体価

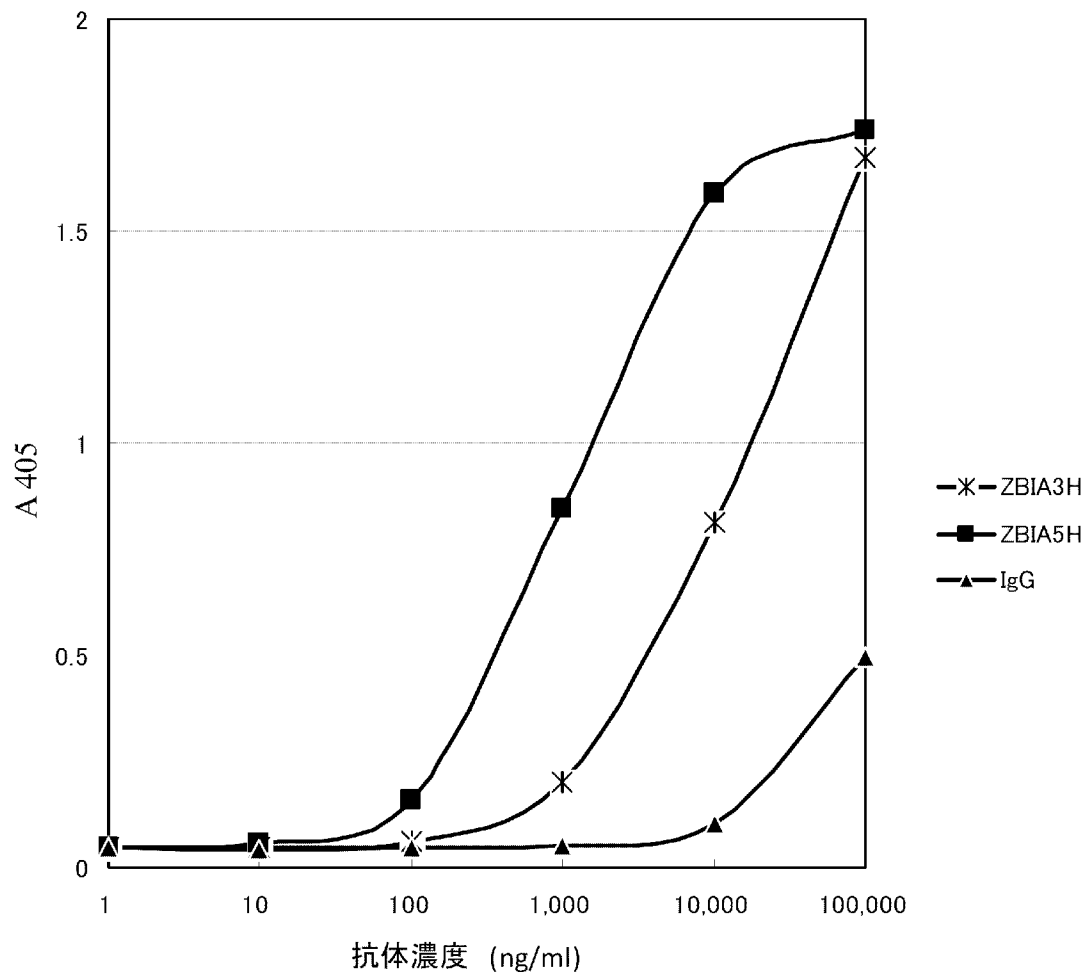


[図2]



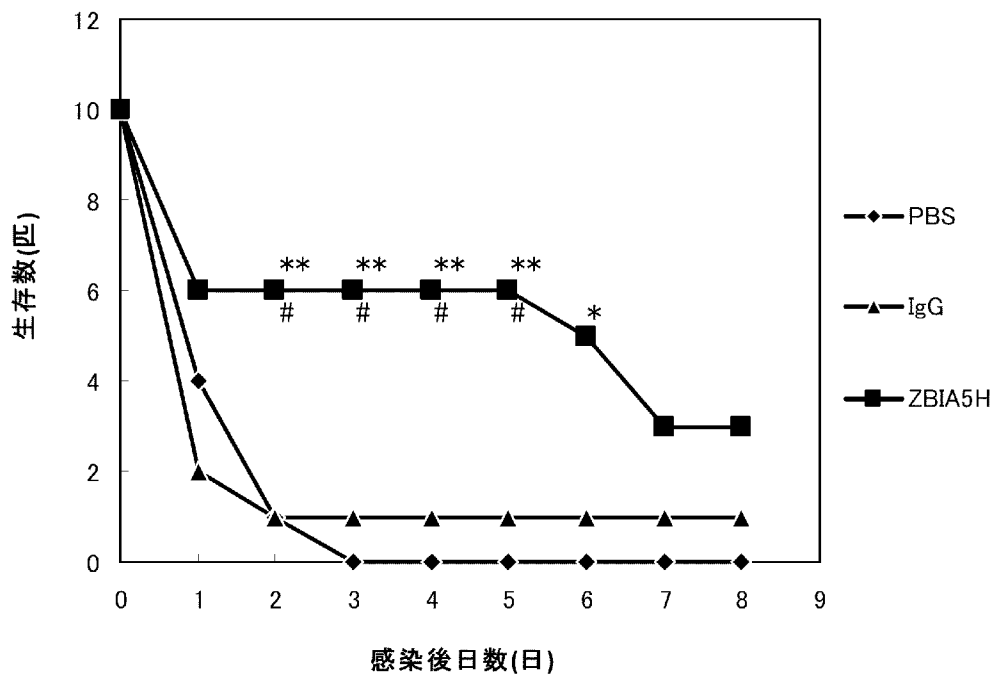
抗ブドウ球菌抗体のELISA反応性

[図3]



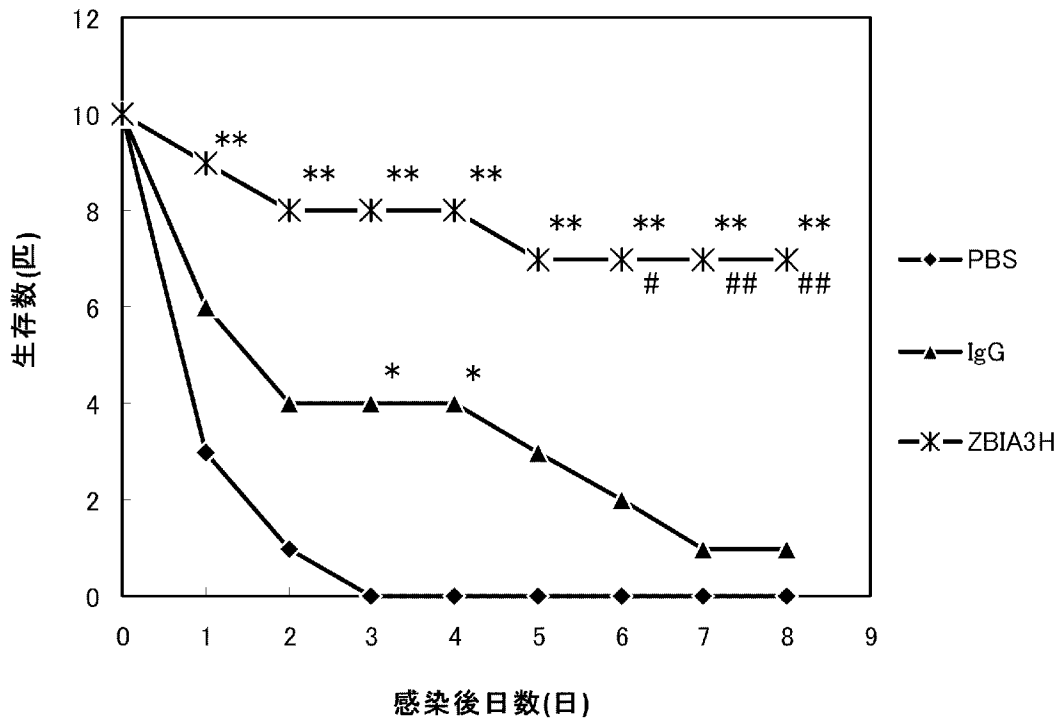
ZBIA5H 抗体および ZBIA3H 抗体の表皮ブドウ球菌固相化 Cell-ELISA における反応性

[図4]



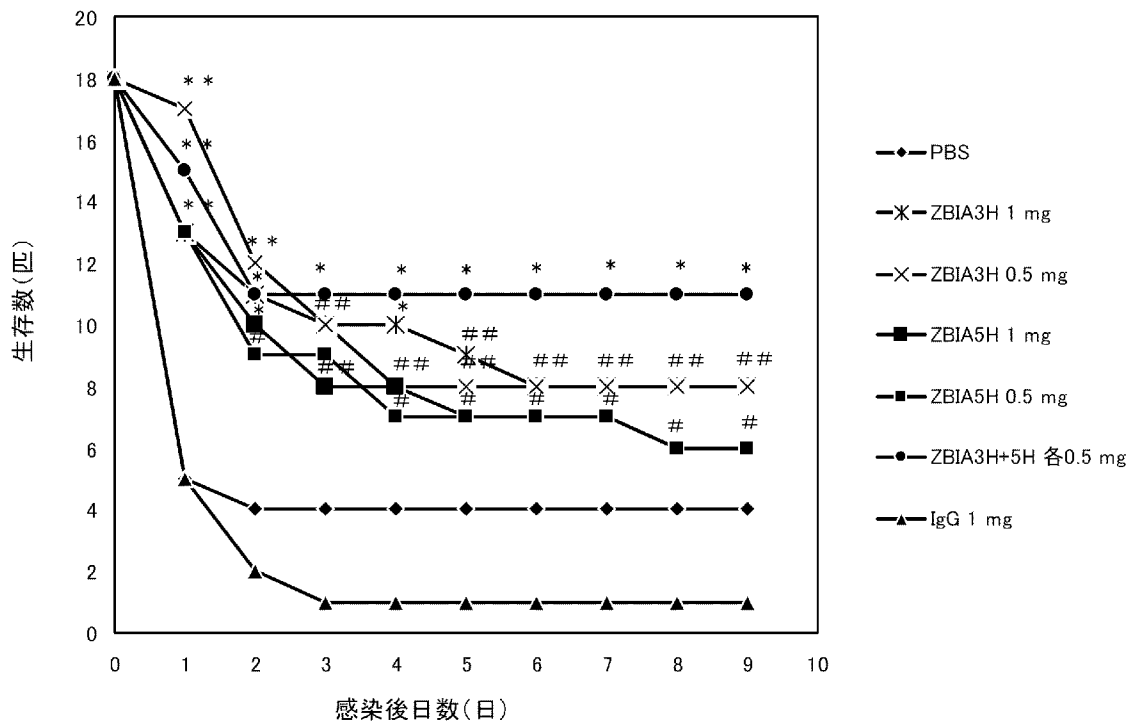
ZBIA5H 抗体のMW2 株マウス敗血症モデルでの効果

[図5]



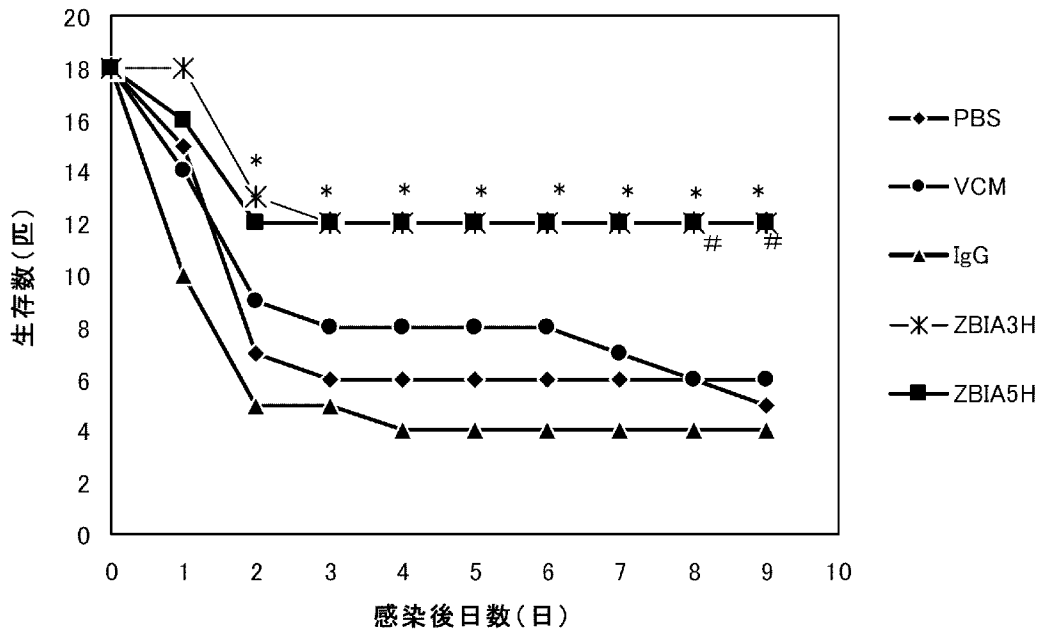
ZBIA3H 抗体のMW2 株マウス敗血症モデルでの効果

[図6]



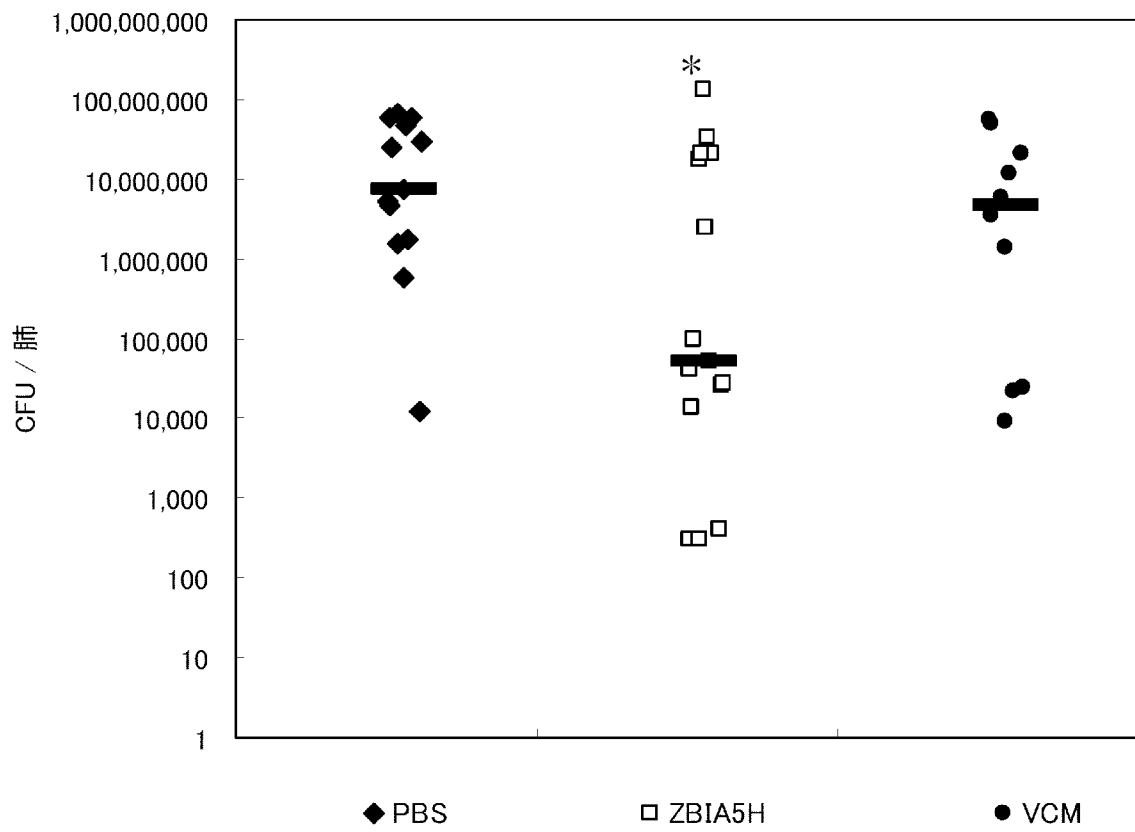
ZBIA5H抗体とZBIA3H抗体との併用によるMW2株敗血症への効果

[図7]



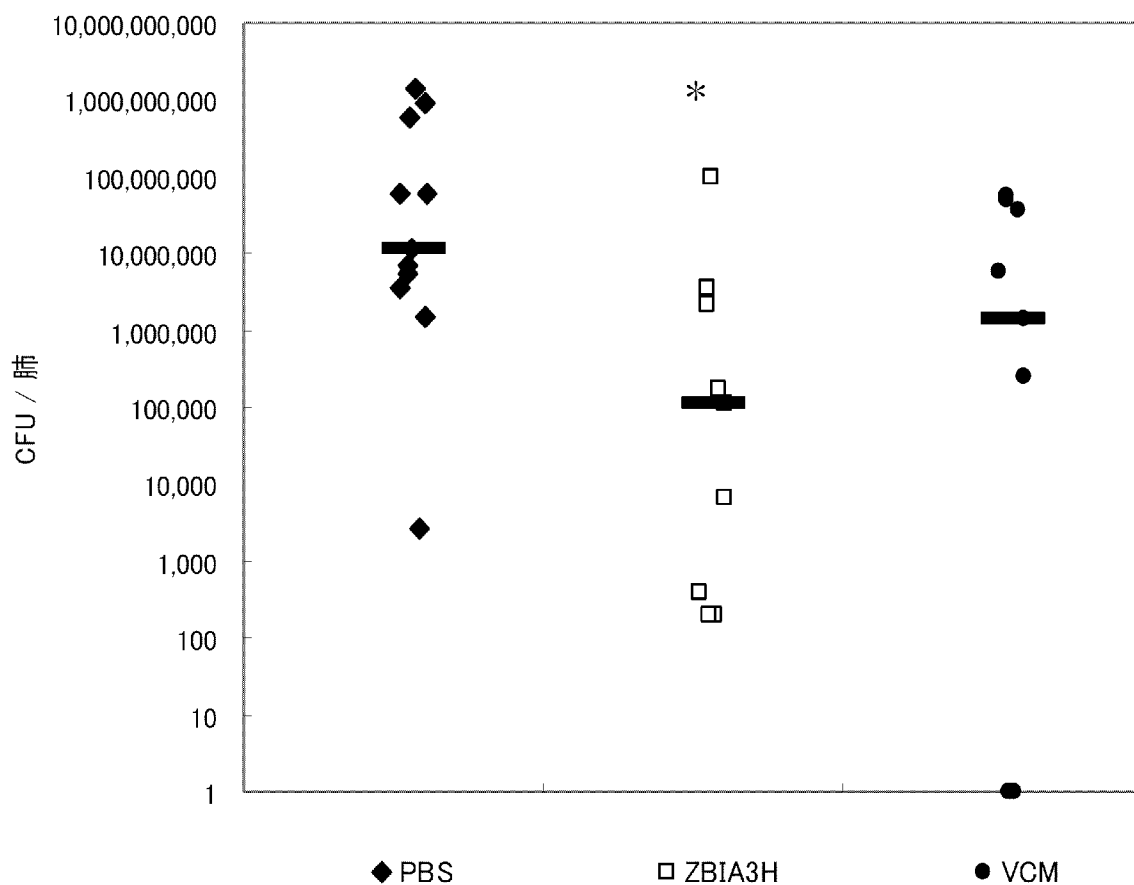
ZBIA5H抗体およびZBIA3H抗体のVRS1株マウス敗血症モデルでの効果

[図8]



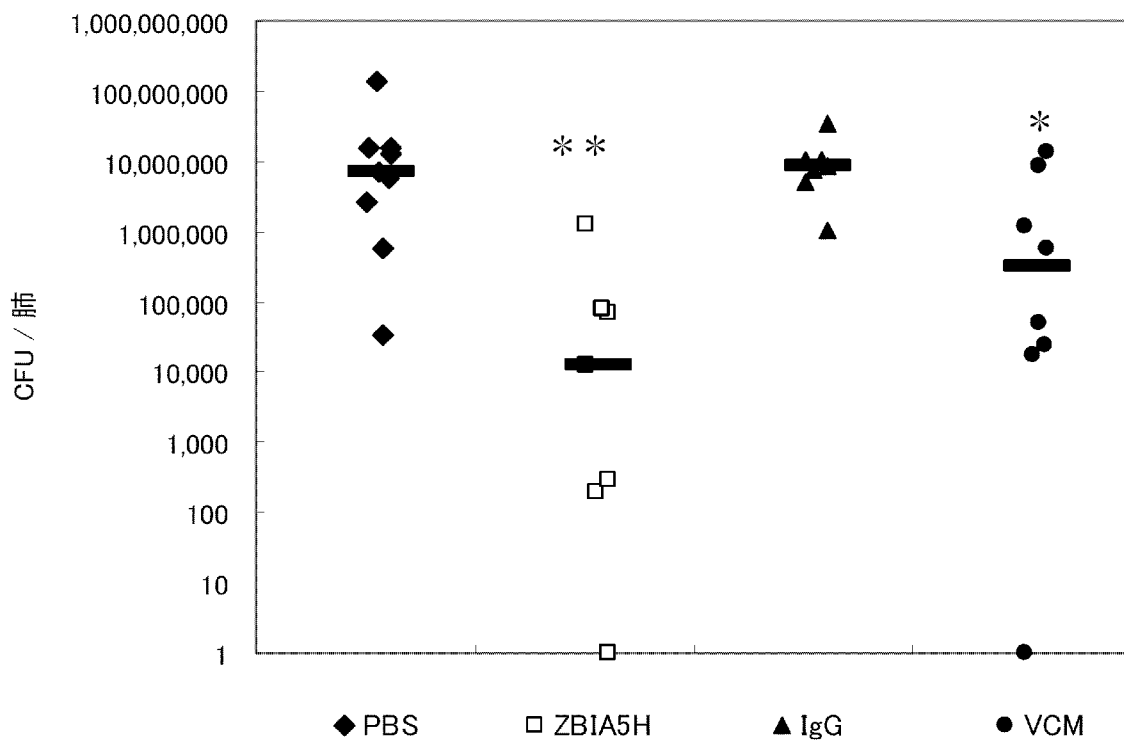
ZBIA5H 抗体の MW2 株マウス肺炎モデルでの予防効果

[図9]



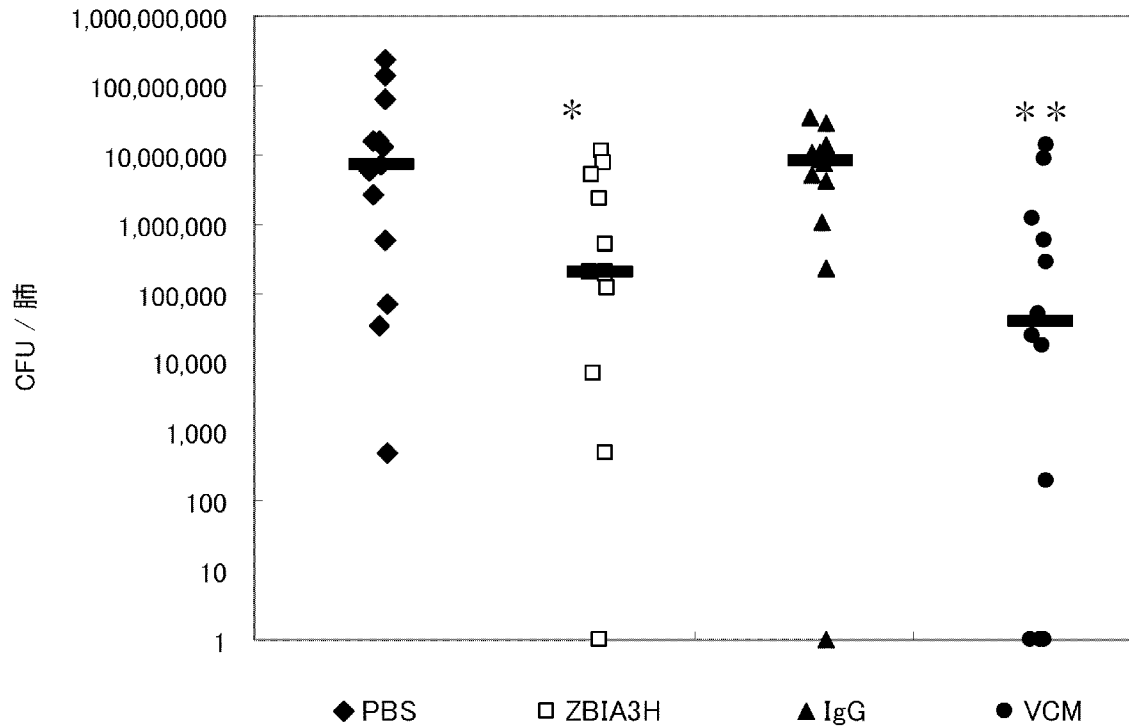
ZBIA3H 抗体の MW2 株マウス肺炎モデルでの予防効果

[図10]



ZBIA5H 抗体の MW2 株マウス肺炎モデルでの治療効果

[図11]



ZBIA3H 抗体の MW2 株マウス肺炎モデルでの治療効果

[図12]

## ZBIA5H VH

1: QIQLVQSGPELKKPGETVKI SCKASGYTFTDYSMHWVKQAPGKGLKWMGWINTETGEPTY 60  
 61: ADDFKGRFAFSLETSASTAYLQINNLKNEdTATYFCARPYYAMDYWGQGTSVTVSS 116

## ZBIA5H VL

1: DIQMTQSPSSLSASLGKVTITCKASQDINKYIAWYQHKPGKGPRLLIHYTSTLQPGIPS 60  
 61: RFSGSGSGRDYSFISISNLEPEDIATYYCLQYDNLLPWTFGGGKLEIK 108

[図13]

## ZBIA3H VH

1: EVQLVESGGGLVQPKGSLKLSCAASGFTTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKSNNYAT 60  
 61: YYADSVKDRFTISRDDSQSMLYLQMNSLKTEDTAMYYCVRRGGNAIYYAMDYWGQGTSVT 120  
 121: VSS 123

## ZBIA3H VL

1: QIVLTQSPAIMSASPGEKVTMTCSANSSVSYMHWYQKSGTSPKAWIYDTSKLASGVPAR 60  
 61: FSGSGSGTSYSLTISSEAEADAATYYCQQWSSNPPTFGSGTKLEIK 106

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

International application No.

PCT/JP2014/056324

**A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER**  
 C07K16/12(2006.01)i, A61K39/395(2006.01)i, A61P31/04(2006.01)i, C12N1/15(2006.01)i, C12N1/19(2006.01)i, C12N1/21(2006.01)i, C12N5/10(2006.01)i, C12N15/02(2006.01)i, C12N15/09(2006.01)i, C12P21/08(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)  
 C07K16/12, A61K39/395, A61P31/04, C12N1/15, C12N1/19, C12N1/21, C12N5/10, C12N15/02, C12N15/09, C12P21/08

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched  
 Jitsuyo Shinan Koho 1922-1996 Jitsuyo Shinan Toroku Koho 1996-2014  
 Kokai Jitsuyo Shinan Koho 1971-2014 Toroku Jitsuyo Shinan Koho 1994-2014

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)  
 CAPLUS/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN), JSTPLUS/JMEDPLUS/JST7580 (JDreamIII), CiNii

**C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT**

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	LITRAN T. M. et al., Comparative Opsonic and Protective Activities of Staphylococcus aureus	1, 7, 8, 19, 22, 24
Y	Conjugate Vaccines Containing Native or Deacetylated Staphylococcal Poly-N-Acetyl-β-(1-6)-Glucosamine, INFECTION AND IMMUNITY, 2005, Vol.73, No.10, p.6752-6762	1-24
X	GENING M. L., Synthetic β-(1→6)-Linked N-Acetylated and Nonacetylated Oligoglucosamines Used To Produce Conjugate Vaccines for Bacterial Pathogens, INFECTION AND IMMUNITY, 2010, Vol.78, No.2, p.764-772	1, 7, 19, 22, 24
Y		1-24

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

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

Date of the actual completion of the international search 22 May, 2014 (22.05.14)	Date of mailing of the international search report 03 June, 2014 (03.06.14)
--	--

Name and mailing address of the ISA/ Japanese Patent Office	Authorized officer
Facsimile No.	Telephone No.



**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

International application No.

PCT/JP2014/056324

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X Y	JP 2008-501317 A (The Brigham and Women's Hospital, Inc.), 24 January 2008 (24.01.2008), & US 2006/0115486 A1 & EP 1745075 A & CN 101001874 A	1, 7, 8, 10, 15-19, 22 1-24
X Y	QUINTOS C. K. et al., Characterization of the Opsonic and Protective Activity against Staphylococcus aureus of Fully Human Monoclonal Antibodies Specific for the Bacterial Surface Polysaccharide Poly-N-Acetylglucosamine, INFECTION AND IMMUNITY, 2006, Vol.74, No.5, p.2742-2750	1, 7, 8, 10, 15-19, 22 1-24

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int.Cl. C07K16/12(2006.01)i, A61K39/395(2006.01)i, A61P31/04(2006.01)i, C12N1/15(2006.01)i, C12N1/19(2006.01)i, C12N1/21(2006.01)i, C12N5/10(2006.01)i, C12N15/02(2006.01)i, C12N15/09(2006.01)i, C12P21/08(2006.01)i

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int.Cl. C07K16/12, A61K39/395, A61P31/04, C12N1/15, C12N1/19, C12N1/21, C12N5/10, C12N15/02, C12N15/09, C12P21/08

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報	1922-1996年
日本国公開実用新案公報	1971-2014年
日本国実用新案登録公報	1996-2014年
日本国登録実用新案公報	1994-2014年

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

CAplus/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS(STN), JSTplus/JMEDPlus/JST7580(JDreamIII), CiNii

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
X	LITRAN T. M. et al., Comparative Opsonic and Protective Activities of Staphylococcus aureus Conjugate Vaccines	1, 7, 8, 19, 22, 24
-	Containing Native or Deacetylated Staphylococcal	-
Y	Poly-N-Acetyl-β-(1-6)-Glucosamine, INFECTION AND IMMUNITY, 2005, Vol.73, No.10, p.6752-6762	1-24

C欄の続きにも文献が列挙されている。

パテントファミリーに関する別紙を参照。

\* 引用文献のカテゴリー

「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの  
 「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの  
 「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)  
 「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献  
 「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献  
 「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの  
 「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの  
 「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの  
 「&」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

22.05.2014

国際調査報告の発送日

03.06.2014

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/J P)  
 郵便番号100-8915  
 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

北村 悠美子

電話番号 03-3581-1101 内線 3488

4N

4501

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
X - Y	GENING M. L., Synthetic $\beta$ -(1→6)-Linked N-Acetylated and Nonacetylated Oligoglucosamines Used To Produce Conjugate Vaccines for Bacterial Pathogens, INFECTION AND IMMUNITY, 2010, Vol.78, No.2, p.764-772	1, 7, 19, 22, 24 - 1-24
X - Y	JP 2008-501317 A (ザ ブライハム アンド ウイメンズ ホスピタル, インコーポレイテッド) 2008.01.24, & US 2006/0115486 A1 & EP 1745075 A & CN 101001874 A	1, 7, 8, 10, 15-19, 22 - 1-24
X - Y	QUINTOS C. K. et al., Characterization of the Opsonic and Protective Activity against Staphylococcus aureus of Fully Human Monoclonal Antibodies Specific for the Bacterial Surface Polysaccharide Poly-N-Acetylglucosamine, INFECTION AND IMMUNITY, 2006, Vol.74, No.5, p.2742-2750	1, 7, 8, 10, 15-19, 22 - 1-24