

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号

特表2023-511331

(P2023-511331A)

(43)公表日 令和5年3月17日(2023.3.17)

(51)国際特許分類		F I		テーマコード (参考)	
C 1 2 N	15/13 (2006.01)	C 1 2 N	15/13	Z N A	4 B 0 6 3
C 1 2 N	15/63 (2006.01)	C 1 2 N	15/63	Z	4 B 0 6 4
C 1 2 N	1/15 (2006.01)	C 1 2 N	1/15		4 B 0 6 5
C 1 2 N	1/19 (2006.01)	C 1 2 N	1/19		4 C 0 8 5
C 1 2 N	1/21 (2006.01)	C 1 2 N	1/21		4 H 0 4 5
		審査請求	未請求	予備審査請求	未請求 (全31頁) 最終頁に続く
(21)出願番号	特願2022-543677(P2022-543677)			(71)出願人	519312016
(86)(22)出願日	令和3年1月14日(2021.1.14)				カイロス セラピューティクス, インコ
(85)翻訳文提出日	令和4年9月13日(2022.9.13)				ーポレイテッド
(86)国際出願番号	PCT/US2021/013423				アメリカ合衆国 バージニア 2 0 1 0 9
(87)国際公開番号	WO2021/146413				, マナッサス, ディスカバリー プー
(87)国際公開日	令和3年7月22日(2021.7.22)				ルバード 9 5 0 1, スイート 1 2 0
(31)優先権主張番号	62/961,768			(74)代理人	100078282
(32)優先日	令和2年1月16日(2020.1.16)				弁理士 山本 秀策
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)			(74)代理人	100113413
(81)指定国・地域	AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA				弁理士 森下 夏樹
	,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(			(74)代理人	100181674
	AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,A				弁理士 飯田 貴敏
	T,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR			(74)代理人	100181641
	,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,				弁理士 石川 大輔
	最終頁に続く			(74)代理人	230113332
					最終頁に続く

(54)【発明の名称】 骨髄腫細胞および卵巣がん細胞に特異的なヒト化抗体

(57)【要約】

本開示は、ヒトの骨髄腫細胞および卵巣がん細胞に結合し、これらの細胞を殺傷することができるヒト化抗体およびそのフラグメントを提供する。前記抗体およびそのフラグメントは、治療目的、診断目的および研究目的のために有用である。本発明の抗体または抗体フラグメントは組成物に含まれ得る。組成物は無菌であり得る。したがって、そのような組成物の一例が、本明細書中に記載されるような抗体または抗体のフラグメントを含有する無菌組成物であり得る。無菌組成物は、抗体または抗体フラグメントの組み合わせを包含する無菌組成物であって、1あるいは前記1またはそれを超える抗体または抗体フラグメントが、本明細書中に記載されるような抗体または抗体フラグメントである、無菌組成物であり得る。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

VH FW1、VH CDR1、VH FW2、VH CDR2、VH FW3、VH CDR3、およびVHFW4を含むVHドメイン、ならびに

VL FW1、VL CDR1、VL FW2、VL CDR2、VL FW3、VL CDR3、およびVL FW4を含むVLドメイン

を含み、

前記VH FW1が、配列番号23に示される配列を有し、

前記VH CDR1が、配列番号1に示される配列を有し、

前記VH FW2が、配列番号10に示される配列を有し

10

前記VH CDR2が、配列番号2に示される配列を有し、

前記VH FW3が、配列番号24に示される配列を有し、

前記VH CDR3が、配列番号3に示される配列を有し、

前記VH FW4が、配列番号25に示される配列を有し、

前記VL FW1が、配列番号26に示される配列を有し、

前記VL CDR1が、配列番号4に示される配列を有し、

前記VL FW2が、配列番号14に示される配列を有し、

前記VL CDR2が、配列番号5に示される配列を有し、

前記VL FW3が、配列番号15に示される配列を有し、

前記VL CDR3が、配列番号6に示される配列を有し、かつ

20

前記VL FW4が、配列番号27に示される配列を有する、

抗体またはその抗体フラグメント。

【請求項 2】

前記VH FW1が、配列番号9に示される配列を有し、前記VH FW3が、配列番号11に示される配列を有し、かつ、前記VH FW4が、配列番号12に示される配列を有する；または

前記VH FW1が、配列番号17に示される配列を有し、前記VH FW3が、配列番号18に示される配列を有し、かつ、前記VH FW3が、配列番号20に示される配列を有する；

または前記VH FW1が、配列番号13に示される配列を有し、かつ、前記VH FW4が、配列番号16に示される配列を有する；または

30

前記VL FW1が、配列番号21に示される配列を有し、かつ、前記VL FW4が、配列番号22に示される配列を有する；または

前記VH FW1が、配列番号9に示される配列を有し、前記VH FW3が、配列番号11に示される配列を有し、前記VH FW4が、配列番号12に示される配列を有し、前記VL FW1が、配列番号13に示される配列を有し、かつ、前記VL FW4が、配列番号16に示される配列を有する；または

前記VH FW1が、配列番号17に示される配列を有し、前記VH FW3が、配列番号18に示される配列を有し、前記VH FW4が、配列番号20に示される配列を有し、前記VL FW1が、配列番号21に示される配列を有し、かつ、前記VL FW4が、配列番号22に示される配列を有する；または

40

前記VH FW1が、配列番号17に示される配列を有し、前記VH FW3が、配列番号18に示される配列を有し、前記VH FW4が、配列番号20に示される配列を有し、前記VL FW1が、配列番号13に示される配列を有し、かつ、前記VL FW4が、配列番号16に示される配列を有する；または

前記VH FW1が、配列番号9に示される配列を有し、前記VH FW3が、配列番号11に示される配列を有し、前記VH FW4が、配列番号12に示される配列を有し、前記VL FW1が、配列番号21に示される配列を有し、かつ、前記VL FW4が、配列番号22に示される配列を有する

請求項1に記載の抗体または抗体フラグメント。

50

【請求項 3】

VHドメインおよびVLドメインを含む抗体またはその抗体フラグメントであって、
前記VHドメインが、VH CDR1、VH CDR2、およびVH CDR3を含み、かつ、前記VLドメインが、VL CDR1、VL CDR2、およびVL CDR3を含み、かつ

前記VH CDR1が、配列番号28に示される配列を有し、
前記VH CDR2が、配列番号2に示される配列を有し、
前記VH CDR3が、配列番号3に示される配列を有し、
前記VL CDR1が、配列番号30に示される配列を有し、
前記VL CDR2が、配列番号5に示される配列を有し、かつ
前記VL CDR3が、配列番号6に示される配列を有する
抗体またはその抗体フラグメント。

10

【請求項 4】

前記VH CDR1が、配列番号28に示される配列を有し、
前記VH CDR2が、配列番号2に示される配列を有し、
前記VH CDR3が、配列番号3に示される配列を有し、
前記VL CDR1が、配列番号7に示される配列を有し、
前記VL CDR2が、配列番号5に示される配列を有し、かつ
前記VL CDR3が、配列番号6に示される配列を有する
請求項3に記載の抗体または抗体フラグメント。

20

【請求項 5】

前記VH CDR1が、配列番号8に示される配列を有し、
前記VH CDR2が、配列番号2に示される配列を有し、
前記VH CDR3が、配列番号3に示される配列を有し、
前記VL CDR1が、配列番号4に示される配列を有し、
前記VL CDR2が、配列番号5に示される配列を有し、かつ
前記VL CDR3が、配列番号6に示される配列を有する
請求項3に記載の抗体または抗体フラグメント。

【請求項 6】

前記VH CDR1が、配列番号1に示される配列を有し、
前記VH CDR2が、配列番号2に示される配列を有し、
前記VH CDR3が、配列番号3に示される配列を有し、
前記VL CDR1が、配列番号7に示される配列を有し、
前記VL CDR2が、配列番号5に示される配列を有し、かつ
前記VL CDR3が、配列番号6に示される配列を有する
請求項4に記載の抗体または抗体フラグメント。

30

【請求項 7】

前記VH CDR1が、配列番号8に示される配列を有し、
前記VH CDR2が、配列番号2に示される配列を有し、
前記VH CDR3が、配列番号3に示される配列を有し、
前記VL CDR1が、配列番号7に示される配列を有し、
前記VL CDR2が、配列番号5に示される配列を有し、かつ
前記VL CDR3が、配列番号6に示される配列を有する
請求項4に記載の抗体または抗体フラグメント。

40

【請求項 8】

さらに、
配列番号23に示される配列を有するVH FW1、
配列番号10に示される配列を有するVH FW2、
配列番号29に示される配列を有するVH FW3、
配列番号25に示される配列を有するVH FW4、

50

配列番号 26 に示される配列を有する V L F W 1、
 配列番号 14 に示される配列を有する V L F W 2、
 配列番号 15 に示される配列を有する V L F W 3、および
 配列番号 27 に示される配列を有する V L F W 4
 を含む請求項 3 に記載の抗体または抗体フラグメント。

【請求項 9】

さらに、

配列番号 23 に示される配列を有する V H F W 1、
 配列番号 10 に示される配列を有する V H F W 2、
 配列番号 29 に示される配列を有する V H F W 3、
 配列番号 25 に示される配列を有する V H F W 4、
 配列番号 13 に示される配列を有する V L F W 1、
 配列番号 14 に示される配列を有する V L F W 2、
 配列番号 15 に示される配列を有する V L F W 3、および
 配列番号 16 に示される配列を有する V L F W 4
 を含む請求項 4 に記載の抗体または抗体フラグメント。

10

【請求項 10】

さらに、

配列番号 9 に示される配列を有する V H F W 1、
 配列番号 10 に示される配列を有する V H F W 2、
 配列番号 19 に示される配列を有する V H F W 3、
 配列番号 12 に示される配列を有する V H F W 4、
 配列番号 26 に示される配列を有する V L F W 1、
 配列番号 14 に示される配列を有する V L F W 2、
 配列番号 15 に示される配列を有する V L F W 3、および
 配列番号 27 に示される配列を有する V L F W 4
 を含む請求項 5 に記載の抗体または抗体フラグメント。

20

【請求項 11】

さらに、

配列番号 23 に示される配列を有する V H F W 1、
 配列番号 10 に示される配列を有する V H F W 2、
 配列番号 31 に示される配列を有する V H F W 3、
 配列番号 25 に示される配列を有する V H F W 4、
 配列番号 13 に示される配列を有する V L F W 1、
 配列番号 14 に示される配列を有する V L F W 2、
 配列番号 15 に示される配列を有する V L F W 3、および
 配列番号 16 に示される配列を有する V L F W 4
 を含む請求項 6 に記載の抗体または抗体フラグメント。

30

【請求項 12】

(a) 配列番号 9 に示されるようなアミノ酸配列を有する V H F W 1、

40

配列番号 1 に示される配列を有する V H C D R 1、
 配列番号 10 に示される配列を有する V H F W 2、
 配列番号 2 に示される配列を有する V H C D R 2、
 配列番号 11 に示される配列を有する V H F W 3、
 配列番号 3 に示される配列を有する V H C D R 3、
 配列番号 12 に示される配列を有する V H F W 4、
 配列番号 13 に示される配列を有する V L F W 1、
 配列番号 7 に示される配列を有する V L C D R 1、
 配列番号 14 に示される配列を有する V L F W 2、
 配列番号 5 に示される配列を有する V L C D R 2、

50

(b) 配列番号 9 に示される配列を有する V H F W 1、

10

(c) 配列番号 17 に示される配列を有する V H F W 1、

20

(d) 配列番号 9 に示される配列を有する V H F W 1、

30

(e) 配列番号 9 に示される配列を有する V H F W 1、

40

50

配列番号 3 に示される配列を有する V H C D R 3 、
配列番号 1 2 に示される配列を有する V H F W 4 、
配列番号 2 1 に示される配列を有する V L F W 1 、
配列番号 4 に示される配列を有する V L C D R 1 、
配列番号 1 4 に示される配列を有する V L F W 2 、
配列番号 5 に示される配列を有する V L C D R 2 、
配列番号 1 5 に示される配列を有する V L F W 3 、
配列番号 6 に示される配列を有する V L C D R 3 、および
配列番号 2 2 に示される配列を有する V L F W 4
を含む請求項 8 に記載の抗体または抗体フラグメント。

10

【請求項 1 3】

I g A 抗体、I g G 抗体、I g E 抗体、I g A 抗体、I g D 抗体である、請求項 1 ～ 1 2 のいずれかに記載の抗体。

【請求項 1 4】

ヒト化抗体である、請求項 1 ～ 1 2 のいずれかに記載の抗体。

【請求項 1 5】

F a b フラグメント、s c F v フラグメント、F v フラグメント、F (a b ')₂ フラグメント、F a b₂ フラグメント、または F a b ' フラグメントである、請求項 1 ～ 1 2 のいずれかに記載の抗体フラグメント。

20

【請求項 1 6】

請求項 1 ～ 1 2 のいずれか一項に記載の抗体または抗体フラグメントの前記 V H ドメインおよび前記 V L ドメインをコードする核酸配列を含むポリヌクレオチド。

【請求項 1 7】

請求項 1 6 に記載のポリヌクレオチドを含むベクター。

【請求項 1 8】

請求項 1 7 に記載のベクターを含む細胞。

【請求項 1 9】

抗体を発現させる方法であって、請求項 1 8 に記載の細胞を、前記細胞が前記抗体を発現する条件のもとで培養することと、前記発現した抗体を集めることとを含む方法。

【請求項 2 0】

卵巣がん細胞を患者において検出するための方法であって、

患者試料を請求項 1 ～ 1 2 のいずれかに記載の抗体または抗体フラグメントと接触させること、

前記抗体または抗体フラグメントと前記患者試料における卵巣がん細胞との間での結合の存在または非存在を検出すること、および

結合が検出されるならば、前記患者試料における前記卵巣がん細胞の存在を検出すること、または結合が検出されないならば、前記患者試料における卵巣がん細胞の非存在を決定すること

30

を含む方法。

【請求項 2 1】

前記抗体または抗体フラグメントがさらに、検出可能な標識を含む、請求項 2 0 に記載の方法。

40

【請求項 2 2】

骨髄腫細胞を患者において検出するための方法であって、

患者試料を請求項 1 ～ 1 2 のいずれかに記載の抗体または抗体フラグメントと接触させること、

前記抗体または抗体フラグメントと前記患者試料における骨髄腫細胞との間での結合の存在または非存在を検出すること、および

結合が検出されるならば、前記患者試料における前記骨髄腫細胞の存在を検出すること、または結合が検出されないならば、前記患者試料における骨髄腫細胞の非存在を決定す

50

ること

を含む方法。

【請求項 2 3】

前記抗体または抗体フラグメントがさらに、検出可能な標識を含む、請求項 2 2 に記載の方法。

【請求項 2 4】

卵巣がんを患者において診断するための方法であって、

患者試料を請求項 1 ～ 1 2 のいずれかに記載の抗体または抗体フラグメントと接触させること、

前記抗体または抗体フラグメントと患者試料における卵巣がん細胞との間での結合の存在または非存在を検出すること、および

結合が検出されるならば、前記患者を卵巣がんを有すると診断することを含む方法。

【請求項 2 5】

前記抗体または抗体フラグメントがさらに、検出可能な標識を含む、請求項 2 4 に記載の方法。

【請求項 2 6】

骨髄腫を患者において診断するための方法であって、

患者試料を請求項 1 ～ 1 2 のいずれかに記載の抗体または抗体フラグメントと接触させること、

前記抗体または抗体フラグメントと患者試料における骨髄腫細胞との間での結合の存在または非存在を検出すること、および

結合が検出されるならば、前記患者を骨髄腫を有すると診断することを含む方法。

【請求項 2 7】

前記抗体または抗体フラグメントがさらに、検出可能な標識を含む、請求項 2 6 に記載の方法。

【請求項 2 8】

卵巣がんを有する患者を処置するための方法であって、

有効量の請求項 1 ～ 1 2 のいずれかに記載の抗体または抗体フラグメントのいずれかを卵巣がん患者に投与すること

を含む方法。

【請求項 2 9】

前記抗体または抗体フラグメントがさらに治療剤を含む、請求項 2 8 に記載の方法。

【請求項 3 0】

前記抗体または抗体フラグメントが前記治療剤にコンジュゲートされる、請求項 2 9 に記載の方法。

【請求項 3 1】

骨髄腫を有する患者を処置するための方法であって、

有効量の請求項 1 ～ 1 2 のいずれかに記載の抗体または抗体フラグメントのいずれかを骨髄腫患者に投与すること

を含む方法。

【請求項 3 2】

前記抗体または抗体フラグメントがさらに治療剤を含む、請求項 3 1 に記載の方法。

【請求項 3 3】

前記抗体または抗体フラグメントが前記治療剤にコンジュゲートされる、請求項 3 2 に記載の方法。

【請求項 3 4】

卵巣がん細胞を殺傷するための、または卵巣がん細胞の成長を阻害するための方法であって、

10

20

30

40

50

前記卵巣がん細胞を、前記卵巣がん細胞を殺傷するために、または前記卵巣がん細胞の成長を阻害するために十分な量での請求項 1 ～ 12 のいずれかに記載の抗体または抗体フラグメントのいずれかと接触させること

を含む方法。

【請求項 35】

前記抗体または抗体フラグメントがさらに治療剤を含む、請求項 34 に記載の方法。

【請求項 36】

前記抗体または抗体フラグメントが前記治療剤にコンジュゲートされる、請求項 35 に記載の方法。

【請求項 37】

骨髄腫細胞を殺傷するための、または骨髄腫細胞の成長を阻害するための方法であって、前記骨髄腫細胞を、前記骨髄腫細胞を殺傷するために、または前記骨髄腫細胞の成長を阻害するために十分な量での請求項 1 ～ 12 のいずれかに記載の抗体または抗体フラグメントのいずれかと接触させること

を含む方法。

【請求項 38】

前記抗体または抗体フラグメントがさらに治療剤を含む、請求項 37 に記載の方法。

【請求項 39】

前記抗体または抗体フラグメントが前記治療剤にコンジュゲートされる、請求項 38 に記載の方法。

【請求項 40】

骨髄腫細胞を殺傷するための、または骨髄腫細胞の成長を阻害するための方法であって、前記骨髄腫細胞を、CAR-T または CAR-NK などの免疫療法剤との組み合わせでの請求項 1 ～ 12 のいずれかに記載の抗体または抗体フラグメントのいずれかと接触させること

を含む方法。

【請求項 41】

前記抗体または抗体フラグメントがさらに治療剤を含む、請求項 40 に記載の方法。

【請求項 42】

前記抗体または抗体フラグメントが前記治療剤にコンジュゲートされる、請求項 41 に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【背景技術】

【0001】

発明の背景

骨髄腫は骨髄における形質細胞のがんである。骨髄腫の徴候および症状には、貧血、疲労、骨痛、腎損傷または腎不全、体重減少、発熱、感染症、血栓、および高カルシウム血症が含まれる。2015 年において、推定で 30,000 人の成人が骨髄腫と診断され、推定で 12,000 人～13,000 人の成人が骨髄腫で死亡した。

【0002】

卵巣がんは女性の中でのがん死亡の第 5 位であり、女性生殖器系の他のいかなるがんよりも多い女性のがん死亡の原因となっている。米国だけにおいて、2015 年にはおよそ 23,000 人の女性が卵巣がんと診断され、およそ 14,000 人が卵巣がんで死亡したことが推定されている。卵巣がんを有する女性は、腹部または骨盤における痛み、腹部膨満消化不良、悪心、体重減少、および疲労を経験することがある。

【0003】

骨髄腫細胞および卵巣細胞上の抗原に特異的に結合することができ、かつ、それらが分裂し、拡散し得ることを阻害することができる抗体は、骨髄腫患者および卵巣がん患者にとって非常に有益であろう。これらの特徴を備えている抗体の一例がマウス抗体 VAC69 である。マウス抗体 VAC69 およびその特徴づけが、米国特許第 6,376,654

10

20

30

40

50

号（これはすべての目的のために参照によって本明細書中に組み込まれる）に開示される。

【0004】

VAC69が結合するヒト骨髓腫細胞上のエピトープが、還元条件下のSDS PAGEによって決定される場合、約78 kDa～約120 kDaの分子量を有する単一のグリコシル化ポリペプチド上に発現される。VAC69が結合するヒト卵巣がん細胞上のエピトープが、還元条件下のSDS PAGEによって決定される場合、約76 kDa～約213 kDaの分子量を有する単一のグリコシル化ポリペプチドである抗原の一部として発現される。

【0005】

VAC69は、ヒトの骨髓腫細胞および卵巣がん細胞上の抗原のその認識において特異的であった；VAC69は、ヒト末梢血単核細胞、ヒトB細胞またはヒト慢性骨髓性白血病細胞には結合しなかった。VAC69はまた、数々の他のヒトがん細胞（肺、前立腺、乳房、子宮頸部、神経芽細胞腫、リンパ腫および白血病など）のどれとも反応しなかった。さらに、VAC69は、ヒトの正常な組織において、例えば、乳房、卵巣、前立腺、結腸または肺に由来する正常な組織においてその抗原を検出しなかった。

【0006】

マウスVAC69抗体は、インビトロ研究およびSCIDマウスモデルにおいて、ヒトの骨髓腫細胞および卵巣がん細胞を特異的に認識しただけでなく、ヒト骨髓腫細胞およびヒト卵巣がん細胞の殺傷もまた誘導した。ヒト骨髓腫細胞およびヒト卵巣がん細胞上に発現される抗原のエピトープを認識し、このエピトープに結合するVAC69の能力を共通して有する様々なヒト化VAC69抗体が調製されている。これらのヒト化抗体はまた、抗体依存性細胞毒性を介してがん細胞を殺傷し得ることを示した。これらのヒト化抗体は、VAC69マウス抗体を上回るさらなる利点を有している。これらのヒト化抗体はヒト化されているので、これらは、ヒトにおいて抗原性がより低く、したがって、ヒトのがんを処置するためのより好適な、新規かつ有用な治療剤である。

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【0007】

発明の簡単な概要

本開示は、骨髓腫細胞および卵巣がん細胞上に存在するエピトープを特異的に認識する抗体、および該抗体のフラグメントを提供する。

【0008】

本開示はさらに、上記抗体および上記抗体の上記フラグメントを用いる方法、例えば、骨髓腫細胞または卵巣がん細胞を検出する方法を提供する。

【図面の簡単な説明】

【0009】

【図1】ヒト化抗体可変重鎖アミノ酸配列のアラインメント。個々の抗体重鎖CDRの配列と、フレームワーク配列とが、類似するCDR配列およびフレームワーク配列を有するヒト化抗体のコンセンサス配列と同様に、別々に記載されている。

【0010】

【図2】ヒト化抗体可変軽鎖アミノ酸配列のアラインメント。個々の抗体軽鎖CDRの配列と、フレームワーク配列とが、類似するCDR配列およびフレームワーク配列を有するヒト化抗体のコンセンサス配列と同様に、別々に記載されている。

【0011】

【図3】ヒト化抗体構築物（CD1～CD9）、親のマウス抗体（mVAC69）、およびVAC69に基づくヒト／マウスキメラ抗体（CD0）のアラインメント。可変重鎖のアラインメント（上）および可変軽鎖のアラインメント（下）が、2つの異なる参考文献（Oak Biosciences、およびAbyssis Chothia）からのCDRドメインにおいて提供され、重ね合わせたカラースキームで提供される。

10

20

30

40

50

【0012】

【図4】競合結合によるヒト化抗体構築物の結合親和性の決定。図4A：U266細胞を、 1.36×10^{-8} モルから 2.12×10^{-10} モルにまで及ぶ濃度でのそれぞれの抗体（CD0～CD9、またはmVAC69（非標識物））とともに培養した。その後、蛍光標識されたmVAC69をチューブに加え、この蛍光プローブの結合親和性をフローサイトメトリーによって測定した。パーセント阻害を、U266細胞に対する結合を阻止する抗体の量（非標識物の蛍光－試料の蛍光）として決定した。図4B：Ki値。Ki（阻害定数）を推定するために、希釈効果の傾きを計算し、 IC_{50}/Ki を（ウェブサイト tools-dot-thermofisher-dot-com-backslash-downloads-backslash-FP7-dot-pdf に）記載されるように決定した。

10

【0013】

【図5】ヒト化抗体は、Promega ADCC Reporter Bioassayにおいて測定されるようなADCC活性を有する。図5A：U266細胞を、Promegaレポーター細胞、および $0.1 \sim 12 \mu\text{g/mL}$ の範囲の用量設定における様々な抗体とともに18時間培養した。図5B：EC₅₀値。EC₅₀値のために、対数変換された正規化ADCC値は、線形傾向線式を使用して、最も活性な試料（CD0（ 12.5 ng/mL 、キメラVAC69）からの最大半量応答についての計算値を与えた。

【0014】

【図6】図6は配列番号1～31のアミノ酸配列を提供する。

20

【発明を実施するための形態】

【0015】

発明の詳細な説明

抗体

【0016】

本明細書中に提供されるような抗体および前記抗体のフラグメントは、相補性決定領域（CDR）のCDR1、CDR2およびCDR3を有する可変重鎖（VH）ドメインと、CDR1、CDR2およびCDR3を有する可変軽鎖（VL）ドメインとを有し得、ここで、VHのCDR1、CDR2、CDR3、およびVLのCDR1、CDR2、CDR3は、マウス抗体VAC69について記載されるCDRと同じである。本発明の抗体は、マウス抗体と同じ6つのCDRを有するならば、配列番号1に示される配列を有するVH CDR1、配列番号2に示される配列を有するVH CDR2、配列番号3に示される配列を有するVH CDR3、配列番号4に示される配列を有するVL CDR1、配列番号5に示される配列を有するVL CDR2、および配列番号6に示される配列を有するVL CDR3を有する。本発明のヒト化抗体は、マウス抗体のCDRと同じ6つのCDRを有する一方で、異なるフレームワーク（FW）配列を有する。ヒト化抗体のフレームワーク配列は、配列番号23に示される配列を有するVH FW1、配列番号10に示される配列を有するVH FW2、配列番号24に示される配列を有するVH FW3、配列番号25に示される配列を有するVH FW4、配列番号26に示される配列を有するVL FW1、配列番号14に示される配列を有するVL FW2、配列番号15に示される配列を有するVL FW3、および配列番号27に示される配列を有するVL FW4を含み得る。

30

40

【0017】

マウスVAC69抗体と同じ6つのCDRを有する抗体または抗体のフラグメントであって、すなわち、VH CDR1が、配列番号1に示される配列を有し、VH CDR2が、配列番号2に示される配列を有し、VH CDR3が、配列番号3に示される配列を有し、VL CDR1が、配列番号4に示される配列を有し、VL CDR2が、配列番号5に示される配列を有し、かつ、VL CDR3が、配列番号6に示される配列を有する抗体または抗体のフラグメントはあるいは、配列番号9に示される配列を有するVH FW1、配列番号10に示される配列を有するVH FW2、配列番号11に示される配

50

10

20

30

40

50

50

50

50

マウス抗体と同じ6つのCDRを有する別の抗体または抗体フラグメントであって、すなわち、VH CDR1が、配列番号1に示される配列を有し、VH CDR2が、配列番号2に示される配列を有し、VH CDR3が、配列番号3に示される配列を有し、VL CDR1が、配列番号4に示される配列を有し、VL CDR2が、配列番号5に示される配列を有し、かつ、VL CDR3が、配列番号6に示される配列を有する別の抗体または抗体フラグメントはあるいは、配列番号23に示される配列を有するVH FW1、配列番号10に示される配列を有するVH FW2、配列番号24に示される配列を有するVH FW3、配列番号25に示される配列を有するVH FW4、配列番号21に示される配列を有するVL FW1、配列番号14に示される配列を有するVL FW2

2、配列番号15に示される配列を有するV L F W 3、および配列番号22に示される配列を有するV L F W 4を有し得る。

【0022】

マウス抗体の6つのC D Rを有する抗体または抗体フラグメントのさらなる具体的なフレームワーク配列（ただし、V H C D R 1は、配列番号1に示される配列を有し、V H C D R 2は、配列番号2に示される配列を有し、V H C D R 3は、配列番号3に示される配列を有し、V L C D R 1は、配列番号4に示される配列を有し、V L C D R 2は、配列番号5に示される配列を有し、かつ、V L C D R 3は、配列番号6に示される配列を有する）は、下記のいずれか1つであり得る一組のV HフレームワークおよびV Lフレームワークを有し得る：（i）配列番号17に示される配列を有するV H F W 1、配列番号10に示される配列を有するV H F W 2、配列番号18に示される配列を有するV H F W 3、配列番号20に示される配列を有するV H F W 4、配列番号21に示される配列を有するV L F W 1、配列番号14に示される配列を有するV L F W 2、配列番号15に示される配列を有するV L F W 3、および配列番号22に示される配列を有するV L F W 4；または（i i）配列番号17に示される配列を有するV H F W 1、配列番号10に示される配列を有するV H F W 2、配列番号18に示される配列を有するV H F W 3、配列番号20に示される配列を有するV H F W 4、配列番号13に示される配列を有するV L F W 1、配列番号14に示される配列を有するV L F W 2、配列番号15に示される配列を有するV L F W 3、および配列番号16に示される配列を有するV L F W 4；または（i i i）配列番号9に示される配列を有するV H F W 1、配列番号10に示される配列を有するV H F W 2、配列番号11に示される配列を有するV H F W 3、配列番号12に示される配列を有するV H F W 4、配列番号21に示される配列を有するV L F W 1、配列番号14に示される配列を有するV L F W 2、配列番号15に示される配列を有するV L F W 3、および配列番号22に示される配列を有するV L F W 4；または（i v）配列番号9に示される配列を有するV H F W 1、配列番号10に示される配列を有するV H F W 2、配列番号11に示される配列を有するV H F W 3、配列番号12に示される配列を有するV H F W 4、配列番号21に示される配列を有するV L F W 1、配列番号14に示される配列を有するV L F W 2、配列番号15に示される配列を有するV L F W 3、および配列番号22に示される配列を有するV L F W 4。

【0023】

本発明の抗体および抗体フラグメントは、マウスV A C 6 9抗体のものと同一V H C D R 1、C D R 2およびC D R 3ならびに／あるいはV L C D R 1、C D R 2およびC D R 3を有する必要はない。本発明の抗体または抗体フラグメントが、マウス抗体のC D Rと配列が異なるC D Rを有するならば、本発明の抗体または抗体フラグメントは、配列番号28に示される配列を有するV H C D R 1、配列番号2に示される配列を有するV H C D R 2、配列番号3に示される配列を有するV H C D R 3、配列番号30に示される配列を有するV L C D R 1、配列番号5に示される配列を有するV L C D R 2、および配列番号6に示される配列を有するV L C D R 3を有し得る。

【0024】

マウスV A C 6 9抗体とアミノ酸配列が異なるC D Rを有する抗体および抗体フラグメントは、6つのC D R（V H C D R 1、C D R 2およびC D R 3、ならびにV L C D R 1、C D R 2およびC D R 3）からの一組を有し得、これらは、（i）配列番号28に示される配列を有するV H C D R 1、配列番号2に示される配列を有するV H C D R 2、配列番号3に示される配列を有するV H C D R 3、配列番号7に示される配列を有するV L C D R 1、配列番号5に示される配列を有するV L C D R 2、および配列番号6に示される配列を有するV L C D R 3；または（i i）配列番号8に示される配列を有するV H C D R 1、配列番号2に示される配列を有するV H C D R 2、配列番号3に示される配列を有するV H C D R 3、配列番号4に示される配列を有するV L C D R 1、配列番号5に示される配列を有するV L C D R 2、および配列番号6に示され

る配列を有するV L C D R 3 ; または (i i i) 配列番号 1 に示される配列を有するV H C D R 1、配列番号 2 に示される配列を有するV H C D R 2、配列番号 3 に示される配列を有するV H C D R 3、配列番号 7 に示される配列を有するV L C D R 1、配列番号 5 に示される配列を有するV L C D R 2、および配列番号 6 に示される配列を有するV L C D R 3 ; または (i v) 配列番号 8 に示される配列を有するV H C D R 1、配列番号 2 に示される配列を有するV H C D R 2、配列番号 3 に示される配列を有するV H C D R 3、配列番号 7 に示される配列を有するV L C D R 1、配列番号 5 に示される配列を有するV L C D R 2、および配列番号 6 に示される配列を有するV L C D R 3 を包含するアミノ酸配列を有する。

【 0 0 2 5 】

本発明の抗体または抗体フラグメントが、V H C D R 1 が、配列番号 2 8 に示される配列を有し、V H C D R 2 が、配列番号 2 に示される配列を有し、V H C D R 3 が、配列番号 3 に示される配列を有し、V L C D R 1 が、配列番号 3 0 に示される配列を有し、V L C D R 2 が、配列番号 5 に示される配列を有し、かつ、V L C D R 3 が、配列番号 6 に示される配列を有する一組のV H C D R およびV L C D R を有するならば、本発明の抗体または抗体フラグメントは、V H F W 1 が、配列番号 2 3 に示される配列を有し、V H F W 2 が、配列番号 1 0 に示される配列を有し、V H F W 3 が、配列番号 2 9 に示される配列を有し、V H F W 4 が、配列番号 2 5 に示される配列を有し、V L F W 1 が、配列番号 2 6 に示される配列を有し、V L F W 2 が、配列番号 1 4 に示される配列を有し、V L F W 3 が、配列番号 1 5 に示される配列を有し、かつ、V L F W 4 が、配列番号 2 7 に示される配列を有するV H ドメインフレームワークおよびV L ドメインフレームワークを有し得る。

【 0 0 2 6 】

本発明の抗体または抗体フラグメントが、(i) V H C D R 1 が、配列番号 2 8 に示される配列を有し、V H C D R 2 が、配列番号 2 に示される配列を有し、V H C D R 3 が、配列番号 3 に示される配列を有し、V L C D R 1 が、配列番号 7 に示される配列を有し、V L C D R 2 が、配列番号 5 に示される配列を有し、かつ、V L C D R 3 が、配列番号 6 に示される配列を有するC D R、または (i i) V H C D R 1 が、配列番号 8 に示される配列を有し、V H C D R 2 が、配列番号 2 に示される配列を有し、V H C D R 3 が、配列番号 3 に示される配列を有し、V L C D R 1 が、配列番号 4 に示される配列を有し、V L C D R 2 が、配列番号 5 に示される配列を有し、かつ、V L C D R 3 が、配列番号 6 に示される配列を有するC D R、または (i i i) V H C D R 1 が、配列番号 1 に示される配列を有し、V H C D R 2 が、配列番号 2 に示される配列を有し、V H C D R 3 が、配列番号 3 に示される配列を有し、V L C D R 1 が、配列番号 7 に示される配列を有し、V L C D R 2 が、配列番号 5 に示される配列を有し、かつ、V L C D R 3 が、配列番号 6 に示される配列を有するC D R、または (i v) V H C D R 1 が、配列番号 8 に示される配列を有し、V H C D R 2 が、配列番号 2 に示される配列を有し、V H C D R 3 が、配列番号 3 に示される配列を有し、V L C D R 1 が、配列番号 7 に示される配列を有し、V L C D R 2 が、配列番号 5 に示される配列を有し、かつ、V L C D R 3 が、配列番号 6 に示される配列を有するC D R を有するならば、本発明の抗体または抗体フラグメントはさらに、V H F W 1 が、配列番号 2 3 に示される配列を有し、V H F W 2 が、配列番号 1 0 に示される配列を有し、V H F W 3 が、配列番号 2 9 に示される配列を有し、V H F W 4 が、配列番号 2 5 に示される配列を有し、V L F W 1 が、配列番号 2 6 に示される配列を有し、V L F W 2 が、配列番号 1 4 に示される配列を有し、V L F W 3 が、配列番号 1 5 に示される配列を有し、かつ、V L F W 4 が、配列番号 2 7 に示される配列を有するV H ドメインフレームワーク領域およびV L ドメインフレームワーク領域を有し得る。

【 0 0 2 7 】

本発明の抗体または抗体フラグメントが、V H C D R 1 が、配列番号 2 8 に示される配列を有し、V H C D R 2 が、配列番号 2 に示される配列を有し、V H C D R 3 が、

10

20

30

40

50

配列番号 3 に示される配列を有し、V L C D R 1 が、配列番号 7 に示される配列を有し、V L C D R 2 が、配列番号 5 に示される配列を有し、かつ、V L C D R 3 が、配列番号 6 に示される配列を有する一組の V H C D R および V L C D R を有するならば、本発明の抗体または抗体フラグメントは、V H F W 1 が、配列番号 2 3 に示される配列を有し、V H F W 2 が、配列番号 1 0 に示される配列を有し、V H F W 3 が、配列番号 2 9 に示される配列を有し、V H F W 4 が、配列番号 2 5 に示される配列を有し、V L F W 1 が、配列番号 1 3 に示される配列を有し、V L F W 2 が、配列番号 1 4 に示される配列を有し、V L F W 3 が、配列番号 1 5 に示される配列を有し、かつ、V L F W 4 が、配列番号 1 6 に示される配列を有する一組の V H フレームワークおよび V L フレームワークを有し得る。

10

【0028】

本発明の抗体または抗体フラグメントが、V H C D R 1 が、配列番号 8 に示される配列を有し、V H C D R 2 が、配列番号 2 に示される配列を有し、V H C D R 3 が、配列番号 3 に示される配列を有し、V L C D R 1 が、配列番号 4 に示される配列を有し、V L C D R 2 が、配列番号 5 に示される配列を有し、かつ、V L C D R 3 が、配列番号 6 に示される配列を有する一組の V H C D R および V L C D R を有するならば、本発明の抗体または抗体フラグメントは、V H F W 1 が、配列番号 9 に示される配列を有し、V H F W 2 が、配列番号 1 0 に示される配列を有し、V H F W 3 が、配列番号 1 9 に示される配列を有し、V H F W 4 が、配列番号 1 2 に示される配列を有し、V L F W 1 が、配列番号 2 6 に示される配列を有し、V L F W 2 が、配列番号 1 4 に示される配列を有し、V L F W 3 が、配列番号 1 5 に示される配列を有し、かつ、V L F W 4 が、配列番号 2 7 に示される配列を有する V H フレームワークおよび V L フレームワークを有し得る。

20

【0029】

本発明の抗体または抗体フラグメントが、V H C D R 1 が、配列番号 1 に示される配列を有し、V H C D R 2 が、配列番号 2 に示される配列を有し、V H C D R 3 が、配列番号 3 に示される配列を有し、V L C D R 1 が、配列番号 7 に示される配列を有し、V L C D R 2 が、配列番号 5 に示される配列を有し、かつ、V L C D R 3 が、配列番号 6 に示される配列を有する一組の V H C D R および V L C D R を有するならば、本発明の抗体は、V H F W 1 が、配列番号 2 3 に示される配列を有し、V H F W 2 が、配列番号 1 0 に示される配列を有し、V H F W 3 が、配列番号 3 1 に示される配列を有し、V H F W 4 が、配列番号 2 5 に示される配列を有し、V L F W 1 が、配列番号 1 3 に示される配列を有し、V L F W 2 が、配列番号 1 4 に示される配列を有し、V L F W 3 が、配列番号 1 5 に示される配列を有し、かつ、V L F W 4 が、配列番号 1 6 に示される配列を有する一組の V H フレームワークおよび V L フレームワークを有し得る。

30

【0030】

本発明の抗体または抗体フラグメントが、V A C 6 9 マウス抗体の C D R とアミノ酸配列が異なる C D R を有するならば、本発明の抗体または抗体フラグメントは、下記配列からの組のいずれかを包含する V H ドメインおよび V L ドメインを有し得る：(i) 配列番号 9 に示される配列を有する V H F W 1、配列番号 1 に示される配列を有する V H C D R 1、配列番号 1 0 に示される配列を有する V H F W 2、配列番号 2 に示される配列を有する V H C D R 2、配列番号 1 1 に示される配列を有する V H F W 3、配列番号 3 に示される配列を有する V H C D R 3、配列番号 1 2 に示される配列を有する V H F W 4、配列番号 1 3 に示される配列を有する V L F W 1、配列番号 7 に示される配列を有する V L C D R 1、配列番号 1 4 に示される配列を有する V L F W 2、配列番号 5 に示される配列を有する V L C D R 2、配列番号 1 5 に示される配列を有する V L F W 3、配列番号 6 に示される配列を有する V L C D R 3、および配列番号 1 6 に示される配列を有する V L F W 4；または(ii) 配列番号 9 に示される配列を有する V H F W 1、配列番号 8 に示される配列を有する V H C D R 1、配列番号 1 0 に示される配列を有する V H F W 2、配列番号 2 に示される配列を有する V H C D R 2、配列番号

40

50

19に示される配列を有するVH FW3、配列番号3に示される配列を有するVH CDR3、配列番号12に示される配列を有するVH FW4、配列番号13に示される配列を有するVL FW1、配列番号7に示される配列を有するVL CDR1、配列番号14に示される配列を有するVL FW2、配列番号5に示される配列を有するVL CDR2、配列番号15に示される配列を有するVL FW3、配列番号6に示される配列を有するVL CDR3、および配列番号16に示される配列を有するVL FW4；または(iii)配列番号17に示される配列を有するVH FW1、配列番号1に示される配列を有するVH CDR1、配列番号10に示される配列を有するVH FW2、配列番号2に示される配列を有するVH CDR2、配列番号18に示される配列を有するVH FW3、配列番号3に示される配列を有するVH CDR3、配列番号20に示される配列を有するVH FW4、配列番号13に示される配列を有するVL FW1、配列番号7に示される配列を有するVL CDR1、配列番号14に示される配列を有するVL FW2、配列番号5に示される配列を有するVL CDR2、配列番号15に示される配列を有するVL FW3、配列番号6に示される配列を有するVL CDR3、および配列番号16に示される配列を有するVL FW4；または(iv)配列番号9に示される配列を有するVH FW1、配列番号8に示される配列を有するVH CDR1、配列番号10に示される配列を有するVH FW2、配列番号2に示される配列を有するVH CDR2、配列番号19に示される配列を有するVH FW3、配列番号3に示される配列を有するVH CDR3、配列番号12に示される配列を有するVH FW4、配列番号13に示される配列を有するVL FW1、配列番号4に示される配列を有するVL CDR1、配列番号14に示される配列を有するVL FW2、配列番号5に示される配列を有するVL CDR2、配列番号15に示される配列を有するVL FW3、配列番号6に示される配列を有するVL CDR3、および配列番号16に示される配列を有するVL FW4；または(v)配列番号9に示される配列を有するVH FW1、配列番号8に示される配列を有するVH CDR1、配列番号10に示される配列を有するVH FW2、配列番号2に示される配列を有するVH CDR2、配列番号19に示される配列を有するVH FW3、配列番号3に示される配列を有するVH CDR3、配列番号12に示される配列を有するVH FW4、配列番号21に示される配列を有するVL FW1、配列番号4に示される配列を有するVL CDR1、配列番号14に示される配列を有するVL FW2、配列番号5に示される配列を有するVL CDR2、配列番号15に示される配列を有するVL FW3、配列番号6に示される配列を有するVL CDR3、および配列番号22に示される配列を有するVL FW4。

10

20

30

40

50

【0031】

本発明の抗体および抗体フラグメントについてCDR配列およびFW配列として記される配列のすべてが、(図3に示されるように) Absys Chothia法に基づいて記載されているが、Absys Chothia法のCDR配列およびFW配列は、Oak Biosciences法によって決定されるような配列の代わりに容易に使用される場合がある(図3)。本発明の抗体または抗体フラグメントは、図1～図3に示されるような配列または配列の組み合わせをどのような配列であれ、または組み合わせであれ有するVHドメインおよびVLドメインを有し得る。

【0032】

本発明の抗体または抗体フラグメントはどのようなイソタイプの抗体であってもよく、またはどのようなイソタイプの抗体のフラグメントであってもよい。例えば、それは、IgG抗体、IgA抗体、IgM抗体、IgE抗体またはIgD抗体であってもよい。それは、IgG抗体、IgA抗体、IgM抗体、IgE抗体またはIgD抗体のフラグメントであってもよい。抗体のフラグメントは、Fab、F(ab')²、Fab'、Fv、scFv、Fd'、Fab²、またはFd、あるいは当技術分野で知られている他のいずれかの抗体のフラグメントであってもよい。

【0033】

本発明の抗体または抗体フラグメントは組成物に含まれ得る。組成物は無菌であり得る

。したがって、そのような組成物の一例が、本明細書中に記載されるような抗体または抗体のフラグメントを含有する無菌組成物であり得る。無菌組成物は、抗体または抗体フラグメントの組み合わせを包含する無菌組成物であって、1あるいは前記1またはそれを超える抗体または抗体フラグメントが、本明細書中に記載されるような抗体または抗体フラグメントである、無菌組成物であり得る。無菌組成物は、医薬組成物としての使用のために好適であり得る。医薬組成物が、静脈内投与、筋肉内投与、皮下投与または腹腔内投与のために製剤化され得る。医薬組成物はさらに、賦形剤、キャリア、希釈剤または安定剤を含有してよい。当業者は、患者に投与することができる医薬組成物を製剤化するために用いられ得る好適な賦形剤、キャリア、希釈剤または安定剤を承知している。

【0034】

本発明の抗体または抗体フラグメントは、試薬として使用するために、例えば、研究用ツールとして使用するために組成物に含まれる場合がある。そのような組成物は無菌組成物であってよく、または無菌組成物でなくてもよい。そのような組成物は、本明細書中に記載される抗体または抗体フラグメントのいずれかに加えて、凍結保護剤、例えば、グリセロールまたはエチレングリコール（抗体組成物が凍結温度未満で貯蔵されることになる場合）、抗微生物剤、例えば、アジ化ナトリウム、プロテアーゼ阻害剤、酸化防止剤、例えば、ベーターメルカプトエタノールまたはジチオスレイトール、キャリアタンパク質、例えば、ウシ血清アルブミン、金属キレーター、例えば、エチレンジアミン四酢酸、乳化剤、例えば、ポリソルベート20など、または緩衝液、例えば、リン酸緩衝食塩水を含むようによい。組成物は、これらの試薬のいずれか、他の追加の試薬、あるいはこれらの試薬または他の試薬のいずれかの組み合わせを含有してよい。当業者は、抗体または抗体フラグメントを含有する組成物において試薬をどのように組み合わせるかを、ならびに、そのような組成物に存在する試薬の適切な濃度を承知している。

【0035】

本明細書中に記載される抗体および抗体フラグメントは、固体の組成物で、例えば、凍結乾燥抗体組成物で存在してよい。

【0036】

抗体および抗体フラグメントはさらに、検出可能な標識を包含してよい。抗体および抗体フラグメントは、当業者によって理解されているように、任意の分子で適宜標識されてよい。適切な標識が、抗体または抗体フラグメントの意図された使用に基づいて選択され得る。抗体が、検出アッセイにおいて、例えば、酵素結合免疫吸着アッセイにおいて使用されることになるならば、抗体は、西洋ワサビペルオキシダーゼ、アルカリホスファターゼ、西洋ワサビガラクトシダーゼ、またはルシフェラーゼなどの酵素により標識されてよい。酵素が、免疫蛍光アッセイにおいて使用される予定であるならば、酵素は蛍光色素により標識されてよい。あるいは、酵素が、フローサイトメトリーアッセイにおいて使用される予定であるならば、酵素は、蛍光タンパク質または蛍光色素により標識されてよい。抗体を標識するために使用され得る蛍光色素には、例えば、FLAG、GFP、YFP、RFP、Cy3、Cy5、テキサスレッド、ローダミン、Alexa fluorが含まれ得る。抗体または抗体フラグメントが、例えば、治療プロトコルにおいて使用されることになるならば、検出可能な標識はさらに、放射性同位体、例えば、 ^3H 、 ^{14}C 、 ^{15}N 、 ^{35}S 、 ^{90}Y 、 ^{125}I 、または ^{131}I であってよい。

【0037】

抗体または抗体フラグメントは抗腫瘍薬物をさらに包含してよく、または抗腫瘍薬物にコンジュゲートしてよい。がんまたは腫瘍を処置するために有用であり得る抗腫瘍薬物。これらの抗腫瘍薬物の例には、血管新生阻害剤、DNA損傷剤、例えば、カリケアマイシン、アントラサイクリン、デュオカルマイシンまたはピロロベンゾジアゼピン、あるいは微小管阻害剤、例えば、アウリスタチンまたはメイタンシンが含まれる。

【0038】

抗体または抗体フラグメントは生物学的応答調節物質をさらに包含してよく、または生物学的応答調節物質にコンジュゲートしてもよい。生物学的応答調節物質により、骨髓腫

10

20

30

40

50

細胞または卵巣がん細胞に対する患者の免疫応答が改変され得る。免疫応答調節物質には、リンホカイン、例えば、腫瘍壊死因子、インターロイキン、リンホトキシン、マクロファージ活性化因子（M A F）、遊走阻止因子（M I F）、コロニー刺激因子（C S F）およびインターフェロンが含まれる。

【0039】

本明細書中に記載される抗体および抗体フラグメントはキットに存在する場合がある。キットはさらに、抗体または抗体フラグメントを使用するための指示を含有してよい。指示は、インビトロまたはインビボでの検出アッセイまたは検出手順における抗体の使用に関する場合がある。指示は、治療プロトコルにおける抗体の使用に関する場合がある。指示は、処方のための抗体の最終調製（例えば、希釈または溶解）、ならびに／あるいはインビトロ検出アッセイ、インビボ検出アッセイにおいて、または治療プロトコルにおいて使える状態にすることに関する場合がある。キットは1またはそれを超える水溶液をさらに含有する場合があり、さらにまた、追加の作用物質、例えば、治療剤（1つまたは1つより多く）を1またはそれを超える別個の容器に含有してよい。

10

【0040】

ポリヌクレオチド、ベクターおよび細胞

【0041】

本明細書中に記載される抗体または抗体フラグメントのV Hドメインおよび／またはV Lドメインをコードするポリヌクレオチドもまた提供される。ポリヌクレオチドはD N Aである場合があり、あるいはR N Aである場合があり、あるいは修飾されたD N AまたはR N A、例えば、P N Aである場合がある。

20

【0042】

当業者は、本明細書中に提供されるようなV HドメインおよびV Lドメインのアミノ酸配列の知識を用いて、抗体のV HドメインおよびV Lドメインをコードする核酸配列を容易に産生することができる。図1～図3を参照のこと。ポリヌクレオチドは、抗体または抗体フラグメントのV HドメインおよびV Lドメインの両方の配列、あるいは抗体または抗体フラグメントのV Hドメインのみの配列、あるいは抗体または抗体フラグメントのV Lドメインのみの配列を包含してよい。

【0043】

ポリヌクレオチドはベクターに含まれてよい。ベクターは発現ベクターであってよい。発現ベクターは、抗体が一過性トランスフェクションシステムで発現されるかどうか、または抗体が宿主細胞の染色体に組み込まれるかどうかに基づいて選択され得る。発現ベクターはまた、抗体を発現する細胞タイプ（例えば、哺乳動物、細菌、植物または真菌）に基づいて選択してよい。細胞用の発現ベクターは、多くが市販されているので供給業者から購入してもよく、あるいは独自開発されたものであってもよく、または当業者によって調製されてもよい。

30

【0044】

発現ベクターは、強力なプロモーター、例えば、前初期サイトメガロウイルスプロモーター、細胞伸長因子（E F）Iーアルファプロモーターを有し得る。発現ベクターは、m R N A安定性および翻訳効率の改善のために、シミアンウイルス（S V）40由来またはウシ成長ホルモン由来のポリアデニル化部位を有してよい。発現ベクターはまた、選択マーカー、クローニング部位および他の調節配列（例えば、内部リボソーム進入部位）を有してよい。

40

【0045】

宿主細胞は、ベクターを含有し得る。宿主細胞は、哺乳動物細胞、例えば、チャイニーズハムスター卵巣細胞、P e r . C 6株由来のヒト網膜細胞、N S 0、ベビーハムスター腎臓細胞、H K B 1 1細胞、M C F - 7細胞、H e L a細胞、C O S - 7細胞、V E R O細胞、2 9 3細胞、C V 1細胞、またはヒト胚性腎臓細胞H E K 2 9 3であってよい。宿主細胞は、昆虫細胞、例えば、S p o d o p t e r a f r u g i p e r d aの昆虫細胞株S f - 9またはS f - 2 1の細胞であってよい。宿主細胞は、N i c o t i a n a t

50

a b a c u m、N i c o t i a n a b e n t h a m i a n a、N i c o t i a n a t a b a c u m、またはN i c o t i a n a b e n t h a m i a n aなどの、トランスジェニック植物における植物細胞であってよい。

【0046】

宿主細胞は抗体または抗体フラグメントを発現し得る。抗体または抗体が、宿主細胞による発現の後、単離および／または精製され得る。

【0047】

卵巣がん細胞または骨髄腫細胞の検出

【0048】

本明細書中に記載される抗体および／または抗体のフラグメントは、がん細胞を患者において検出する方法において使用することができる。そのような方法において、患者試料を、本明細書中に記載されるような抗体または抗体フラグメントと接触させる。抗体または抗体フラグメントと患者試料におけるがん細胞との間での結合の存在または非存在が検出される。抗体または抗体フラグメントのがん細胞に対する結合が検出されるならば、がんの存在が検出される。抗体または抗体フラグメントの結合が検出されないならば、がん細胞の非存在が決定される。がん細胞は卵巣がん細胞または骨髄腫細胞であってよい。

10

【0049】

がん細胞を検出する方法において、患者は、がんを有すると疑われる患者、または日常的なウェルビジット検査 (well visit examination) の一部としての日常的スクリーニングを受けている患者であってよい。患者はまた、がんを有することを知っており、処置を受けようとしている場合があり、またはがんについて処置されているプロセスにある患者である場合がある。患者が、がんを有することを知っているならば、患者はまた、がんの進行についてモニターされていてよく、またはがんについての適切な治療処置レジメンを選択するという目的のためにスクリーニングされていてよい。

20

【0050】

本方法において、患者試料を、本明細書中に記載されるような抗体または抗体のフラグメントと接触させる。患者試料は組織試料または体液試料であってよい。試料が体液試料であるならば、体液試料は、血液試料、血清試料または尿試料であり得る。試料が組織試料であるならば、組織試料は生検由来である場合があり、骨髄腫の場合には骨髄試料、または卵巣がんの場合におけるような卵巣組織試料などである場合がある。

30

【0051】

患者試料を患者から得て、当該試料を得た同じ施設 (例えば、病院、診療所または診療室) において試験し得る。患者試料を患者 (p a t e n t) から得て、試験のために第2の施設に送る場合がある。第2の施設は試料を第1の施設から入手する。あるいは、患者試料は、がん細胞に対する抗体結合を決定するために、かつ、場合によっては患者におけるがん細胞の局在化をさらに決定するために画像化される患者 (すなわち、インビボ試験) であってよい。

【0052】

抗体または抗体フラグメントを、がん細胞を検出するためのアッセイタイプに依存して、標識してよい。標識には、上記で議論されているが、酵素、蛍光タンパク質もしくは蛍光色素、または放射性核種が含まれ得る。抗体を、酵素により、例えば、西洋ワサビペルオキシダーゼ、アルカリホスファターゼ、西洋ワサビガラクトシダーゼ、またはルシフェラーゼにより標識してよい。抗体が蛍光色素により標識されるならば、抗体を、シアン蛍光タンパク質、緑色蛍光タンパク質、黄色蛍光タンパク質、赤色蛍光タンパク質、C y 3、C y 5、テキサスレッド、ローダミン、またはA l e x a f l u o rで標識してよい。抗体または抗体が、放射性同位体により標識されるならば、 ^3H 、 ^{14}C 、 ^{15}N 、 ^{35}S 、 ^{90}Y 、 ^{125}I または ^{131}I により標識してよい。当業者は、抗体のための適切な標識、および抗体をどのように標識するかを承知している。標識された抗体を利用する検出のための方法には、当該抗体を患者に投与することによる患者の画像化、あるいはE L I S A、フローサイトメトリーまたは免疫組織化学が含まれる。

40

50

【0053】

骨髄腫または卵巣がんの診断

【0054】

がんを診断する方法において、患者試料を、本明細書中に記載されるような抗体または抗体のフラグメントと接触させる。抗体または抗体フラグメントとがん細胞との間での結合の存在または非存在が検出される。患者は、結合が検出されるならば、がんと診断される。がんは骨髄腫または卵巣がんであってよい。がんは卵管がんまたは腹膜がんであってよい。

【0055】

そのような診断方法において、患者は、がんを有すると疑われる患者、または日常的なウェルビジット検査の一部としての日常的スクリーニングを受けている患者であってよい。患者は、診断方法が日常的なウェルビジット検査の一部であるならば、患者試料を提出してよく、この場合、患者試料は体液試料であり、例えば、血液試料、血清試料または尿試料である。患者は、がんを有すると疑われるならば、体液試料、例えば、血液試料、血清試料または尿試料のいずれかとして試料を提出してよく、あるいは生検試料、例えば、骨髄腫の場合には骨髄試料、または卵巣がんの場合におけるような卵巣組織試料を提出してよい。患者ががんを有すると疑われるならば、患者は患者試料であってよく（すなわち、インビボ試験）、かつ、患者は、患者におけるがん細胞に対する抗体結合を決定するために画像化されてよい。

【0056】

診断する方法が患者試料に対して実施されるならば、すなわち、当該方法がインビトロで実施される場合、試料を、適切な試料を患者の身体から取り出すことによって患者から入手することができ、かつ／あるいは、試料を抗体または抗体フラグメントと接触させて、抗体または抗体フラグメントの、試料中の細胞との結合の存在または非存在を検出する適切な施設でそれを受領することによって患者から入手することができる。

【0057】

がん細胞に結合する抗体または抗体フラグメントは、がん細胞が試料に存在するならば、試料中の細胞に対する抗体または抗体フラグメントの結合の検出を容易にするために標識してよい。抗体または抗体フラグメントは、酵素、蛍光タンパク質もしくは蛍光色素、または放射性核種を含めて任意の好適な材料で標識してよい。抗体は、酵素、例えば、西洋ワサビペルオキシダーゼ、アルカリホスファターゼ、西洋ワサビガラクトシダーゼ、またはルシフェラーゼにより標識してよい。抗体が蛍光色素により標識されるならば、抗体は、青色蛍光タンパク質、緑色蛍光タンパク質、黄色蛍光タンパク質、赤色蛍光タンパク質、Cy3、Cy5、テキサスレッド、ローダミン、またはAlexa fluorにより標識してよい。抗体または抗体は、放射性同位体により標識されるならば、 ^3H 、 ^{14}C 、 ^{15}N 、 ^{35}S 、 ^{90}Y 、 ^{125}I または ^{131}I により標識してよい。当業者は、任意の所与の検出方法において用いられる方法に基づいて、抗体のための適切な標識、および抗体をどのように標識するかを承知している。検出のための方法には、抗体を患者に投与することによる患者の画像化、ならびにELISA、フローサイトメトリーおよび免疫組織化学が含まれる。

【0058】

診断方法において、診断は、がんを有する患者を診断することを含み得、また、がんのステージおよび／または当該がんの予想される予後の指標をさらに含む得る。

【0059】

骨髄腫または卵巣がんを有する患者を処置する方法

【0060】

がんを有する患者を処置するための方法において、有効量の本明細書中に記載される抗体または抗体フラグメントのいずれかががん患者に投与される。がん患者は骨髄腫患者または卵巣がん患者である場合がある。患者は卵管がん患者または腹膜がん患者である場合がある。

10

20

30

40

50

【0061】

抗体の有効量としては、患者におけるがん細胞の負荷を軽減する量、患者におけるがんの進行を遅らせる量、患者の生存の可能性を増大させる量、患者についての生存期間を増大させる量、または患者におけるがんの症状を緩和する量のいずれかであってもよい。

【0062】

患者を処置する抗体または抗体のフラグメントは、静脈内に、腹腔内に、筋肉内に、皮下に、腔内に、または経皮に投与してよい。抗体または抗体のフラグメントの投与は、医薬組成物として、しかも、無菌である組成物としてである。抗体または抗体フラグメントが非経口で投与されるならば、抗体または抗体フラグメントは、滅菌の水性または非水性の液剤、懸濁剤または乳剤として投与してよい。非水性溶媒の例は、プロピレングリコール、ポリエチレングリコール、植物油（例えば、オリーブ油）、および注射可能な有機エステル（例えば、オレイン酸エチル）である。水性キャリアの例には、食塩水および緩衝化媒体を含めて、水、アルコール性／水性の溶液、エマルションまたは懸濁物が含まれる。抗体または抗体フラグメントが静脈内に投与されるならば、静脈内ビヒクルの例には、体液補充液および栄養補充液、ならびに電解質補充液（例えば、リンゲルデキストロースに基づくもの）が含まれる。防腐剤および他の添加剤、例えば、抗菌剤、抗酸化剤、キレート化剤および／または不活性ガスなどもまた存在してよい。

【0063】

患者を処置する抗体または抗体のフラグメントはさらに、治療用部分を含み得る。治療用部分としては、抗体または抗体フラグメントががん細胞を殺傷することができること、またはがん細胞の成長を阻害することができることを増強するものであれば、どのようなものも可能である。治療用部分は、例えば、ペプチド、小分子または放射性同位体であってもよい。治療用部分がペプチドであるならば、治療用部分は、毒素、例えば、ジフテリア毒素または改変ジフテリア毒素、あるいはリシンまたは改変リシンであってもよい。治療用部分が小分子または薬物であるならば、治療用部分は、ドキソルビシン、アウリスタチン、メイタンシンまたはカリケアマイシンであってもよい。治療用部分が ^{90}Y 、 ^{125}I または ^{131}I であるならば。

【0064】

患者を処置する抗体または抗体のフラグメントは、任意の適切なスケジュールに従って、かつ任意の適切な用量で投与してよい。適切な用量が $0.1\text{ mg/kg} \sim 500\text{ mg/kg}$ の範囲であってもよく、また、 1 mg/kg もしくは 1 mg/kg 、または 10 mg/kg 、または 50 mg/kg 、または 100 mg/kg または 200 mg/kg 、または 250 mg/kg または 500 mg/kg であってもよい。投与スケジュールは、1週間に1回、1ヶ月に1回、3ヶ月毎に1回、または6ヶ月毎に1回であってもよい。

【0065】

抗体または抗体フラグメントの投与が、1またはそれを超える他の治療薬との組み合わせであってもよい。抗体または抗体フラグメントとの組み合わせで投与される治療剤（1つまたは複数）は、同時に、かつ単回送達で投与してよく、または同時に、しかし異なる送達で投与してよく、または処置レジメンの過程において異なる時間に、例えば、異なる日に、または同じ日の異なる時間に投与してよい。

【0066】

がんを有する患者を処置するために抗体または抗体フラグメントと組み合わせられ得る治療剤としては、処置における抗体または抗体の効力をさらに改善するものであれば、どのようなものであってもよい。治療剤は、がん細胞を殺傷するもの、またはがん細胞の成長を阻害するものだけでなくよい。治療剤はまた、がんの症状を、またはがんを処置するために用いられる治療剤の副作用の症状を緩和し得る。

【0067】

がんが骨髄腫であるならば、本明細書中に開示される抗体または抗体フラグメントとともに投与され得る治療剤（1つまたは複数）はがんをさらに処置し得、ダラツムマブ、ドキソルビシン、エロツズマブ、パノビノスタット、カルフリゾミブ（*carfilizom*

10

20

30

40

50

i b)、イキサゾミブ、ボマリドミド、レナリドミド、サリドマイド、ボルテゾミブ、プリチデブシン、NPI-0052、ベンダムスチン、またはボリノスタット、あるいはそれらの組み合わせであってよい。がんが骨髄腫であるならば、本明細書中に開示される抗体または抗体フラグメントとともに投与され得る治療剤（1つまたは複数）は、骨強度のための支持剤（例えば、ビスホスホネート）、成長因子（例えば、エリスロポイエチンまたはコロニー刺激因子）、造血幹細胞を回復させるための幹細胞移植片、あるいは貧血のための葉酸鉄またはビタミンB-12を多く含むサプリメントであってよい。作用物質ではなく、さらなる治療が、例えば、放射線などが施されてよい。

【0068】

がんが卵巣がんであるならば、本明細書中に開示される抗体または抗体フラグメントとともに投与され得る治療剤（1つまたは複数）はがんをさらに処置することができ、メルファラン、ペバシズマブ、カルボプラチン、シクロホスファミド、ドキソルビシン、ドセタキセル、ゲムシタビン、トポテカン、オラパリブ、メルファラン、パクリタキセル（タキソール）、オキサリプラチン、シスプラチン、チオテパ、またはそれらの組み合わせ、例えば、カルボプラチン-タキソール、ゲムシタビン-シスプラチンであってよい。

【0069】

骨髄腫細胞または卵巣がん細胞を殺傷する、あるいは骨髄腫細胞または卵巣がん細胞の成長を阻害する方法

【0070】

がん細胞を殺傷する、またはがん細胞の成長を阻害する方法において、がん細胞を、本明細書中に記載されるような抗体または抗体フラグメントと接触させる。がん細胞と接触させる抗体または抗体フラグメントの量は、がん細胞を殺傷するために、またはがん細胞の成長を阻害するために十分である。がん細胞は骨髄腫細胞である場合があり、または卵巣がん細胞である場合がある。がん細胞は卵管がん細胞または腹膜がん細胞である場合がある。

【0071】

本方法におけるがん細胞は患者から入手し得、またはがん細胞株のものであり得る。本方法におけるがん細胞が患者から得られるならば、本方法は、がん細胞が得られたがん患者に投与される抗体または抗体フラグメントの適切な用量および／または投与レジメンを決定するためのスクリーニングプロトコルの一部であり得る。あるいは、本方法は、がん細胞が得られたがん患者に投与するための適切なさらなる治療剤を決定するためのスクリーニングプロトコルの一部であり得る。

【0072】

癌がんを処置するための治療剤の最適な組み合わせを特定するためのスクリーニングアッセイにおいて、または臨床提出のための準備において、またはがんの発生もしくは永続化の機構を詳しく吟味するための基礎研究を行うために、がん細胞を殺傷する場合があり、またはその成長を阻害する場合がある。

【0073】

がん細胞を殺傷するために十分である、またはがん細胞の成長を阻害するために十分である、がん細胞と接触させる抗体または抗体フラグメントの量については、当業者は容易に決定することができる。がん細胞の殺傷、またはがん細胞の成長を阻害することが、細胞に投与する抗体または抗体フラグメントの量を連続的に増加させることによって決定することができる。がん細胞を殺傷することは、本方法におけるすべてのがん細胞の殺傷であってよく、または本方法におけるがん細胞の95%、90%、80%、75%、70%、60%、50%、40%、30%、25%、20%または10%の殺傷であってよい。同様に、がん細胞の成長を本方法において阻害することは、がん細胞のすべての成長を本方法において阻害することであってよい。がん細胞の成長を阻害することは、本方法におけるがん細胞の95%、90%、80%、75%、70%、60%、50%、40%、30%、25%、20%または10%の成長を阻害することであってよい。

【0074】

がん細胞に投与される抗体または抗体のフラグメントはさらに、治療用部分を含み得る。治療用部分としては、抗体または抗体フラグメントががん細胞を殺傷することができること、またはがん細胞の成長を阻害することができることを増強するものであれば、どのようなものも可能である。治療用部分は、例えば、ペプチド、小分子または放射性同位体であってよい。治療用部分がペプチドであるならば、治療用部分は、毒素、例えば、ジフテリア毒素または改変ジフテリア毒素、あるいはリシンまたは改変リシンであってよい。治療用部分が小分子または薬物であるならば、治療用部分は、ドキソルビシン、アウリスチン、メイタンシンまたはカリケマイシンであってよい。治療用部分が放射性同位体であるならば、それは、 ^{90}Y 、 ^{125}I または ^{131}I であってよい。

【0075】

10

がん細胞に投与される抗体または抗体フラグメントは、がん細胞を殺傷すること、またはがん細胞の成長を阻害することにおける抗体または抗体フラグメントの効力を改善するさらなる治療剤と組み合わせることができる。治療剤は、ダラツムマブ、ドキソルビシン、エロツズマブ、パノビノスタット、カルフリゾミブ、イキサゾミブ、ポマリドミド、レナリドミド、サリドマイド、ボルテゾミブ、プリチデブシン、NPI-0052、ベンダムスチン、ボリノスタット、メルファラン、ペバシズマブ、カルボプラチン、シクロホスファミド、ドキソルビシン、ドセタキセル、ゲムシタビン、トポテカン、オラパリブ、メルファラン、パクリタキセル（タキソール）、オキサリプラチン、シスプラチン、チオテパ、およびそれらの組み合わせであってよい。

【0076】

20

がん細胞に投与される抗体または抗体フラグメントは、がん細胞に対する細胞応答を促進させるために細胞シグナル伝達部分と組み合わせることができる。このことの例には、CD3 ζ 、CD28または4-1BBの細胞内シグナル伝達ドメインを、キメラ抗原受容体を作り出すために付加することが含まれる。この場合、抗体または抗体フラグメントは細胞に対する細胞シグナル伝達応答を媒介して、がん細胞に影響を及ぼす。

【実施例】

【0077】

実施例1-VAC69マウス抗体のヒト化

マウス抗体VAC69に基づいて、様々なヒト化抗体をヒトにおける使用のための潜在的治療剤として作製した。マウス抗体の代わりにヒト化抗体を使用することは、治療を受けている患者におけるヒト抗マウス抗体（HAMA）応答を低下させるであろうし、また、長期に及ぶ生着手法において、例えば、キメラ抗原受容体（CAR）-T細胞療法またはCAR-NK細胞療法において一層より大きな重要性を有するであろう。バイオインフォマティクスに基づく配列分析およびモデル化ソフトウェアを使用して、抗体可変領域をヒトドナー配列に融合させて、一群のヒト化重鎖およびヒト化軽鎖を作り出した。その後、これらのヒト化鎖を発現のためにコドン最適化し、合成し、競合分析による相対的結合親和性について親抗体に対して試験した。抗体の可変重鎖および可変軽鎖についての配列および配列アラインメントが図1～図3に提供される。

【0078】

30

実施例2-ヒト化VAC69抗体は抗原結合についてVAC69と競合する

ヒト化VAC69バリエーションの K_i を決定するための競合的結合を、Benedictによって開発されたフローサイトメトリプロトコル（Benedictら、J Immunol. Methods. 201（1997）223-31）の改変型を使用して行った。 K_i を決定するために使用されるプロトコルでは、Benedictの間接的標識化法とは対照的に、直接に標識された抗体を利用した。

【0079】

40

実験開始前に、抗原を発現する腫瘍細胞（U266）をcRPMI培養培地で成長させた。蛍光標識された親のmVAC69抗体を、alex488蛍光標識キット（Thermo #A20181）を製造者の指示に従って使用して調製した。

【0080】

50

実験当日、U266細胞を集め、2%のFBS／0.1%のアジドを含むPBSで洗浄した。非標識の抗体を4℃で1時間にわたって細胞（2E6／mL）に加え、その後、等体積の蛍光標識VAC69抗体を加えた。さらに1時間のインキュベーションの後、細胞を2回洗浄して、非結合の抗体を除去し、蛍光をフローサイトメトリーにより定量した。競合的結合の結果が図4Aおよび図4Bに提供される。

【0081】

実施例3－ヒト化抗体はADCC活性を示す

ヒト化抗体が親のマウス抗体の生物学的活性もまた保持しているかどうかを明らかにするために、ADCC能力を次に試験した。この実験のために、U266細胞を、用量設定した様々なヒト化抗体の用量と一緒に、Promega ADCC Reporter細胞アッセイシステムにより培養した。これらの結果（図5）から、CD1ヒト化抗体が最大のADCC活性を有することが明らかにされた。CD1抗体はまた、ヒト化抗体の最大Kdを有していた（図4）。興味深いことに、CD4クローンは構築物の2番目に強い結合である一方で、中程度のADCC潜在能のみを示した。

【0082】

結論

一群のヒト化抗体をマウス抗体VAC69から作製した。このパネルにおけるヒト化抗体は、3つの可変重鎖ドメインのそれぞれのうちの1つが3つの可変軽鎖のうちの1つとマッチしていた（図1～図3を参照のこと）。その後の試験により、実施例2および実施例3に記載されるように、それぞれのヒト化抗体についての結合親和性およびADCC能力が明らかにされた。このデータが以下の表1に要約される。これらの分析に基づいて、CD1クローンは、親和性および機能（ADCC）がキメラ抗体に最も近いようである。親和性の喪失がキメラ体とヒト化抗体CD1との間に存在する（それぞれ、0.59 nM対0.78 nM）。このサブナノモル濃度の親和性は、現在利用可能である他の臨床等級抗体の範囲に含まれる。

表1：ヒト化抗体クローンについてのADCCおよびKdの要約した分析

【表1】

	CD重鎖A	CD重鎖B (30T->S, 60H->N, 64I->K)	CD重鎖C (多重単一)
CD軽鎖A	CD1/0.78	CD7/2.96	CD4/1.10
CD軽鎖B (125->A, 104G->Q)	CD5/結合なし	CD8/2.07	CD3/1.50
CD軽鎖C (CDR1; ESVYYVT -> KSVDSYGN)	CD6/1.29	CD2/2.42	CD9/結合なし

【0083】

ヒト化抗体クローンおよび競合的結合によって決定されるようなそれらの相対的Kd。

10

20

30

40

50

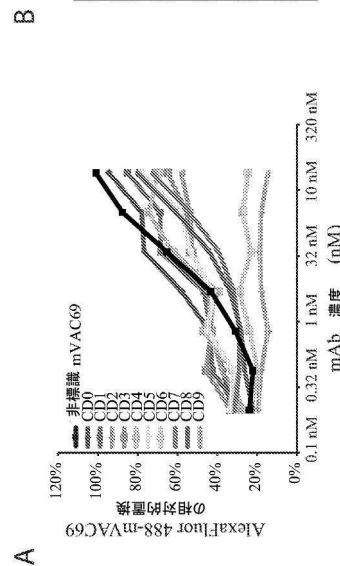
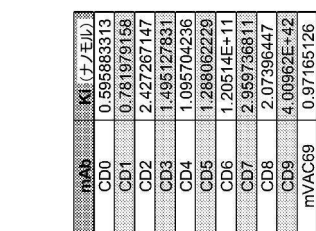
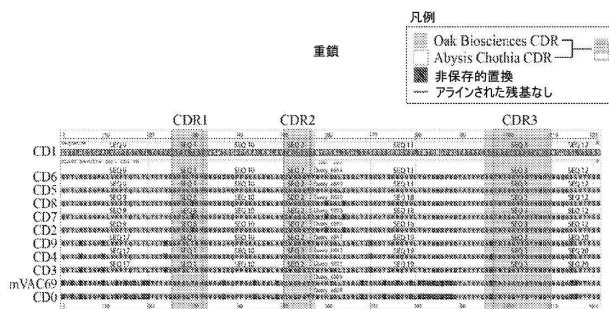
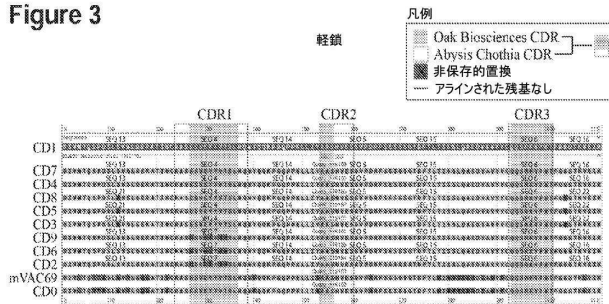
【図面】
【図 1】

【圖 2】

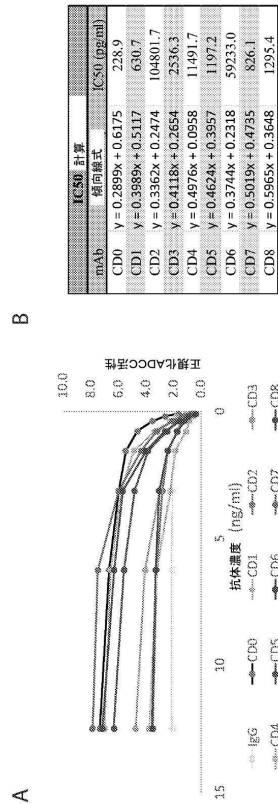
[illegible][illegible]

【圖 3】
Figure 3

【図 4】



【図 5】



【図 6】

Figure 6

配列リスト		
配列番号	配列	領域名
1	GFSLTRY	VH CDR1 バリアント
2	IWGDGT	VH CDR2
3	TRTGGYDYVMDY	VH CDR 3
4	RASESVEYYVTSLMQ	VL CDR1 バリアント
5	AASNVES	VL CDR2
6	QQRKVPWT	VL CDR3
7	RASKSVDSYGNLSMQ	VL CDR1 バリアント
8	GFSLSRY	VH CDR1 バリアント
9	QVTLRESGPALVKPTQTLTLCTVS	VH FW1 バリアント
10	GVSWIRQPPGKALEWLAV	VH FW2
11	TNYHSALISRLTISKDTSKNQVVLMTNMDPVDATATYYCAG	VH FW3 バリアント
12	WGQGS�TVSS	VH FW4 バリアント
13	DIVMTQSPDSLVSLSGERATINC	VL FW1 バリアント
14	WYQKPGQPPKLLIV	VL FW2 バリアント
15	GVPDRFSGSGSGTDFTLTSSSLQAEDVAVYYC	VL FW3
16	FGGKTVEIK	VL FW4 バリアント
17	QVTLKESGPTLVKPTQTLTLCTFS	VH FW1 バリアント
18	TNYHSALISRLTITKDTSKNQVVLMTNMDPVDATATYYCAR	VH FW3 バリアント
19	TNYNSALKSRLTISKDTSKNQVVLMTNMDPVDATATYYCAG	VH FW3 バリアント
20	WGQGLTVTVSS	VH FW4 バリアント
21	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINC	VL FW1 バリアント
22	FGQGTVEIK	VL FW4 バリアント
23	QVTLKESGPTLVKPTQTLTLCTXS	VH FW1 コンセンサス 1
24	WGQGLTVTVSS	VH FW4 コンセンサス 2
25	WGQGLTVTVSS	VH FW4 コンセンサス 3
26	DIVMTQSPDSLXVSLGERATINC	VL FW1 コンセンサス
27	FGXGKTVEIK	VL FW4 コンセンサス
28	GFSLXRY	VH CDR1 コンセンサス
29	TNYXSALXSRLTIXIKDTSKNQVVLMTNMDPVDATATYYCAX	VH FW3 コンセンサス 2
30	GFSLXRY	VL CDR1 コンセンサス
31	TNYHSALISRLTIXKDTSKNQVVLMTNMDPVDATATYYCAX	VH FW3 コンセンサス 3

【配列表】

2023511331000001.app

10

20

30

40

50

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US 21/13423

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC - A61P 35/00, A61P 15/00, A61P 37/02, A61P 19/00, G01N 33/574 (2021.01)

CPC - C07K 16/3069, C07K 16/3061, A61K 2039/505, G01N 2800/52

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)

See Search History document

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

See Search History document

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

See Search History document

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US 2007/0269372 A1 (GELBER) 22 November 2007 (22.11.2007) Abstract; Claim 1	1, 2, (13-19)/1
A	WO 2017/022668 A1 (RIKEN) 9 February 2017 (09.02.2017) Claim 1; SEQ ID NO 32	1, 2, (13-19)/1
A	WO 2010/125162 A1 (KLINGUER-HAMOUR CHRISTINE et al.) 4 November 2010 (04.11.2010) Claim 1; SEQ ID NO: 32	1, 2, (13-19)/1
A	WO 2016/040767 A2 (AMGEN INC) 17 March 2016 (17.03.2016) p7, ln 16-17; SEQ ID NO 37	1, 2, (13-19)/1
A	US 2005/0261480 A1 (FOOTE) 24 November 2005 (24.11.2005) para [0107-0108]; CDR1; CDR2	1, 2, (13-19)/1
A	WO 2008/133857 A1 (SCHERING CORPORATION) 6 November 2008 (06.11.2008) Claim 1; SEQ ID NO 57	1, 2, (13-19)/1

☐ 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

29 May 2021 (29.05.2021)

Date of mailing of the international search report

JUN 29 2021

Name and mailing address of the ISA/US

Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents
P.O. Box 1450, Alexandria, Virginia 22313-1450
Facsimile No. 571-273-8300

Authorized officer

Lee Young

Telephone No. PCT Helpdesk: 571-272-4300

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 2019)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US 21/13423

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:

☐ in the form of an Annex C/ST.25 text file.

☐ on paper or in the form of an image file.

b. ☐ furnished together with the international application under PCT Rule 13ter.1(a) for the purposes of international search only in the form of an Annex C/ST.25 text file.

c. ☒ furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search only:

☒ in the form of an Annex C/ST.25 text file (Rule 13ter.1(a)).

☐ on paper or in the form of an image file (Rule 13ter.1(b) and Administrative Instructions, Section 713).

2. ☒ In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that forming part of the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.

3. Additional comments:

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US 21/13423

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.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
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:
—Please see continuation in first extra 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.:
1-2, (13-19) (in part), limited to sequences noted in extra sheet

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

International application No.

PCT/US 21/13423

Continuation of Box No. III. Observations where unity of invention is lacking.

This application contains the following inventions or groups of inventions which are not so linked as to form a single general inventive concept under PCT Rule 13.1. In order for all inventions to be searched, the appropriate additional search fees must be paid.

Group I+, Claims 1-19, directed to an antibody or an antibody fragment thereof comprising:

a VH domain comprising: a VH FW1, VH CDR1, VH FW2, VH CDR2, VH FW3, VH CDR3, and VHFW4; and
a VL domain comprising a VL FW1, VL CDR1, VL FW2, VL CDR2, VL FW3, VL CDR3, and VL FW4. The antibody will be searched to the extent that the antibody encompasses the following sequences:

the VH FW1 has the sequence shown in SEQ ID NO:9;
the VH CDR1 has the sequence shown in SEQ ID NO:1;
the VH FW2 has the sequence shown in SEQ ID NO:10;
the VH CDR2 has the sequence shown in SEQ ID NO:2;
the VH FW3 has the sequence shown in SEQ ID NO:11;
the VH CDR3 has the sequence shown in SEQ ID NO:3;
the VH FW4 has the sequence shown in SEQ ID NO:12;
the VL FW1 has the sequence shown in SEQ ID NO:26;
the VL CDR1 has the sequence shown in SEQ ID NO:4;
the VL FW2 has the sequence shown in SEQ ID NO:14;
the VL CDR2 has the sequence shown in SEQ ID NO:5;
the VL FW3 has the sequence shown in SEQ ID NO:15;
the VL CDR3 has the sequence shown in SEQ ID NO:6; and
the VL FW4 has the sequence shown in SEQ ID NO:27.

(note, these are the first claimed sequences for inventive antibody). It is believed that claims 1-2, (13-19) (in part) encompass this first named invention, and thus these claims will be searched without fee to the extent that the antibody comprises:

the VH FW1 has the sequence shown in SEQ ID NO:9;
the VH CDR1 has the sequence shown in SEQ ID NO:1;
the VH FW2 has the sequence shown in SEQ ID NO:10;
the VH CDR2 has the sequence shown in SEQ ID NO:2;
the VH FW3 has the sequence shown in SEQ ID NO:11;
the VH CDR3 has the sequence shown in SEQ ID NO:3;
the VH FW4 has the sequence shown in SEQ ID NO:12;
the VL FW1 has the sequence shown in SEQ ID NO:26;
the VL CDR1 has the sequence shown in SEQ ID NO:4;
the VL FW2 has the sequence shown in SEQ ID NO:14;
the VL CDR2 has the sequence shown in SEQ ID NO:5;
the VL FW3 has the sequence shown in SEQ ID NO:15;
the VL CDR3 has the sequence shown in SEQ ID NO:6; and
the VL FW4 has the sequence shown in SEQ ID NO:27.

Additional antibodies comprising additional sequences will be searched upon the payment of additional fees. Applicants must specify the claims that encompass any additionally elected antibodies. Applicants must further indicate, if applicable, the claims which encompass the first named invention, if different than what was indicated above for this group. Failure to clearly identify how any paid additional invention fees are to be applied to the "+" group(s) will result in only the first claimed invention to be searched. An exemplary election would be an antibody comprising the antibody of claim 1 wherein the VH FW1 has the sequence shown in SEQ ID NO: 17, the VH FW3 has the sequence shown in SEQ ID NO: 18, and the VH FW4 has the sequence shown in SEQ ID NO:20 (claims 1-2, (13-19) (in part)).

Group II, claims 20-21, 24-25, directed to a method for detecting ovarian cancer cells and for diagnosing ovarian cancer in a patient.

Group III, claims 22-23, 26-27, directed to a method for detecting myeloma cells and for diagnosing myeloma in a patient.

Group IV, claims 28-30, 34-36, directed to a method for treating a patient with ovarian cancer and for killing or inhibiting growth of ovarian cancer cells.

Group V, claims 31-33, 37-42, directed to a method for treating a patient with myeloma and for killing or inhibiting growth of myeloma cells.

The inventions listed as Groups I+, II, III, IV and V do not relate to a single special technical feature under PCT Rule 13.1 because, under PCT Rule 13.2, they lack the same or corresponding special technical features for the following reasons:

-----please see continuation on next sheet -----

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US 21/13423

Continuation of Box No. III. Observations where unity of invention is lacking.

-----continued from previous sheet -----

Special technical features

The inventions of Group I+ each include the special technical feature of a unique amino acid sequence. Each amino acid sequence encodes a unique peptide, and is considered a distinct technical feature.

Additionally, Group I+ has the special technical feature of a composition of matter comprising an antibody, that is not required by Groups II-V.

Group II has the special technical feature of a method for detecting ovarian cancer cells and for diagnosing ovarian cancer in a patient, that is not required by Groups I+, III, IV, and V.

Group III has the special technical feature of a method for detecting myeloma cells and for diagnosing myeloma in a patient, that is not required by Groups I+, II, IV and V.

Group IV has the special technical feature of a method for treating a patient with ovarian cancer and for killing or inhibiting growth of ovarian cancer cells, that is not required by Groups I+, II, III and V.

Group V has the special technical feature of a method for treating a patient with myeloma and for killing or inhibiting growth of myeloma cells, that is not required by Groups I+, II, III and IV.

Common technical features

No technical features are shared between the antibody amino acid sequences of Groups I+ and, accordingly, these groups lack unity a priori.

Additionally, even if Groups I+, II, III, IV and V were considered to share the technical features of including:

an antibody or an antibody fragment thereof comprising:

a VH domain comprising: a VH FW1, VH CDR1, VH FW2, VH CDR2, VH FW3, VH CDR3, and VHFW4; and a VL domain comprising a VL FW1, VL CDR1, VL FW2, VL CDR2, VL FW3, VL CDR3, and VL FW4, these shared technical features are previously disclosed by prior art as discussed below.

Groups II-V additionally share the technical features of:

a method for detecting cancer cells and for diagnosing cancer in a patient;

contacting a patient sample with an antibody or antibody fragment;

detecting presence or absence of binding between the antibody or antibody fragment and cancer cells in the patient sample; and

detecting presence of the cancer or cancer cells in the patient sample if binding is detected or determining absence of cancer or cancer cells in the patient sample if binding is not detected.

a method for treating a patient with cancer and for killing or inhibiting growth of cancer cells comprising:

administering an effective amount of an antibody or antibody fragment to a cancer patient in an amount sufficient to kill or inhibit growth of the cancer cells.

However, these shared technical features are made obvious by US 2007/0269372 A1 to Gelber (hereinafter 'Gelber').

Gelber teaches an antibody that binds cancer cell antigens on myeloma and ovarian cancer cells (Abstract - 'The present invention is directed to cell surface antigens found on myeloma cells and on ovarian cancer cells that are recognized by monoclonal antibodies, and antibody binding fragments thereof, as described. The monoclonal antibodies of the invention are capable of being used for therapeutic, screening, diagnostic and cell purification purposes. A representative and exemplified monoclonal antibody of the present invention recognizes and binds to an epitope common to a surface antigen that is expressed on multiple myeloma cells and to a surface antigen that is expressed on ovarian cancer cells. The function of this monoclonal antibody both in vivo and in vitro is demonstrated.'; Claim 1 - 'A monoclonal antibody or fragment thereof capable of binding to the same antigenic determinant of a cell surface glycoprotein antigen of human myeloma tumor cells as does the monoclonal antibody produced by the hybridoma cell line deposited at the American Type Culture Collection having ATCC Accession No. PTA-450.'). Gelber further teaches methods for diagnosis and treatment of cancer using said antibody (para [0002] - 'The application is related to new surface glycoproteins of human myeloma cells and human ovarian tumor cells, monoclonal antibodies thereto, and methods of diagnosis and treatment of myeloma and ovarian cancer based thereon.'). Gelber does not expressly teach the antibody comprises a VH domain comprising: a VH FW1, VH CDR1, VH FW2, VH CDR2, VH FW3, VH CDR3, and VHFW4; and a VL domain comprising a VL FW1, VL CDR1, VL FW2, VL CDR2, VL FW3, VL CDR3, and VL FW4. However, since antibody structure was well known in the art, it would have been obvious to one of ordinary skill in the art that the antibody of Gelber comprises a VH domain comprising: a VH FW1, VH CDR1, VH FW2, VH CDR2, VH FW3, VH CDR3, and VHFW4; and a VL domain comprising a VL FW1, VL CDR1, VL FW2, VL CDR2, VL FW3, VL CDR3, and VL FW4.

As the technical features were known in the art at the time of the invention, they cannot be considered special technical features that would otherwise unify the groups.

Therefore, Group I+, II, III, IV and V inventions lack unity under PCT Rule 13 because they do not share the same or corresponding special technical feature.

フロントページの続き

(51)国際特許分類

F I

テーマコード (参考)

C 1 2 N	5/10 (2006.01)	C 1 2 N	5/10	
C 1 2 Q	1/02 (2006.01)	C 1 2 Q	1/02	
A 6 1 P	35/00 (2006.01)	A 6 1 P	35/00	
A 6 1 K	39/395 (2006.01)	A 6 1 K	39/395	N
A 6 1 P	35/02 (2006.01)	A 6 1 P	35/02	
G 0 1 N	33/574 (2006.01)	G 0 1 N	33/574	D
C 0 7 K	16/30 (2006.01)	C 0 7 K	16/30	
C 1 2 P	21/08 (2006.01)	C 1 2 P	21/08	

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,N
E,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,
CZ,DE,DJ,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IR,IS,IT,JO,JP,K
E,KG,KH,KN,KP,KR,KW,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LU,LY,MA,MD,ME,MG,MK,MN,MW,MX,MY,MZ,NA,N
G,NI,NO,NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,RU,RW,SA,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

弁護士 山本 健策

(72)発明者 ゲルバー, コハヴァ

アメリカ合衆国 バージニア 2 0 1 8 1, ノークスビル, サルキー ラン コート 1 4 6 4 5,
カイロス セラピューティクス, コーポレイション 気付

F ターム (参考)

4B063 QA01 QQ02 QR48 QS33 QX02
4B064 AG27 CA19 DA05
4B065 AA93Y AB01 BA02 CA25 CA44
4C085 AA14 CC23 DD62 EE01 GG01
4H045 AA11 BA09 BA70 CA40 DA76 EA24 EA26 EA51 FA74