(19)日本国特許庁(JP)　(12)公表特許公報(A)　(11)特許出願公表番号
特表2018-505652
(P2018-505652A)
(43)公表日　平成30年3月1日(2018.3.1)

(51)Int.Cl.		F I			テーマコード（参考）
C12N 15/09	(2006.01)	C12N	15/00	ZNAA	4B064
C07K 16/28	(2006.01)	C07K	16/28		4B065
C07K 16/40	(2006.01)	C07K	16/40		4C084
C12P 21/08	(2006.01)	C12P	21/08		4C085
C12N 9/99	(2006.01)	C12N	9/99		4C086

審査請求 未請求　予備審査請求 未請求　（全 171 頁）　最終頁に続く

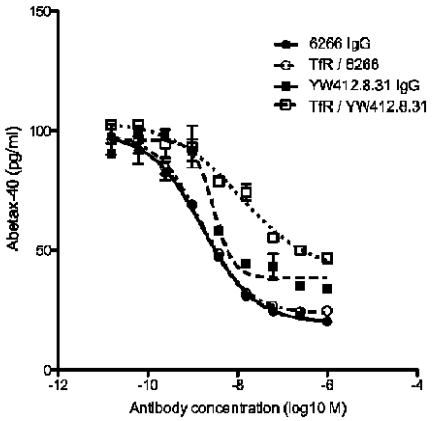
(21)出願番号　特願2017-526560 (P2017-526560)
(86)(22)出願日　平成27年11月18日 (2015.11.18)
(85)翻訳文提出日　平成29年7月13日 (2017.7.13)
(86)国際出願番号　PCT/US2015/061402
(87)国際公開番号　WO2016/081640
(87)国際公開日　平成28年5月26日 (2016.5.26)
(31)優先権主張番号　62/081,965
(32)優先日　平成26年11月19日 (2014.11.19)
(33)優先権主張国　米国 (US)

(71)出願人　509012625
ジェネンテック，　インコーポレイテッド
アメリカ合衆国　カリフォルニア州　サウス　サンフランシスコ　ディーエヌエー　ウェイ　1
(71)出願人　513010789
アディマブ，　エルエルシー
アメリカ合衆国　ニューハンプシャー　０３７６６，　レバノン，　ルーセント　ドライブ　７
(74)代理人　110002077
園田・小林特許業務法人

最終頁に続く

(54)【発明の名称】抗トランスフェリン受容体／抗ＢＡＣＥ１多重特異性抗体および使用方法

(57)【要約】
本発明は、トランスフェリン受容体及びＢＡＣＥ１に結合する二重特異性抗体ならびにそれらを使用する方法に関する。
【選択図】図２９



	YW412.8.31		6266	
	IgG	Bispec	IgG	Bispec
Max Inhib (%)	62	54	79	74
IC_{50} (M)	2.9E-09	11E-09	1.7E-09	1.6E-09

FIG. 29

【特許請求の範囲】
【請求項１】
多重特異性抗体であって、ヒトトランスフェリン受容体（ＴｆＲ）及び霊長類ＴｆＲに結合する第１抗原結合部位を含む抗体前半を備え、前記抗体がトランスフェリンのＴｆＲへの結合を阻害せず、ＢＡＣＥ１に結合する第２抗原結合部位を含む抗体後半であって、前記第２抗原結合部位が
ａ）配列番号１５１～１５６から選択されたＨＶＲ－Ｈ１配列、配列番号１７２～１７５から選択されたＨＶＲ－Ｈ２配列、配列番号２００及び２０１から選択されたＨＶＲ－Ｈ３配列、配列番号２１２及び２１３から選択されたＨＶＲ－Ｌ１配列、配列番号２１９及び２２０から選択されたＨＶＲ－Ｌ２配列、配列番号２２５～２２８及び２４８から選択されたＨＶＲ－Ｌ３配列、または
ｂ）配列番号１５７～１７１、３７６，３８１及び３８２から選択されたＨＶＲ－Ｈ１配列、配列番号１７６～１９９、３７７、３８３及び４０５から選択されたＨＶＲ－Ｈ２配列、配列番号２０２～２１１、３７８、３７９、３８４及び３８５から選択されたＨＶＲ－Ｈ３配列、配列番号２１４～２１８から選択されたＨＶＲ－Ｌ１配列、配列番号２１９～２２４及び３７５から選択されたＨＶＲ－Ｌ２配列、配列番号２２９～２４７から選択されたＨＶＲ－Ｌ３配列を含む前記抗体後半を備える、前記多重特異性抗体。
【請求項２】
多重特異性抗体であって、ヒトＴｆＲ及び霊長類ＴｆＲに結合する第１抗原結合部位を含む抗体前半を備え、前記抗体がトランスフェリンのＴｆＲへの結合を阻害せず、抗体の１つ以上の特性が修飾されて、網状赤血球への抗体の影響が低減または除去され、及び／または抗体で処置した対象または哺乳類の急性臨床症状の重症度または存在が低減し、ＢＡＣＥ１に結合する第２抗原結合部位を含む抗体後半であって、該第２抗原結合部位が
ａ）配列番号１５１～１５６から選択されたＨＶＲ－Ｈ１配列、配列番号１７２～１７５から選択されたＨＶＲ－Ｈ２配列、配列番号２００及び２０１から選択されたＨＶＲ－Ｈ３配列、配列番号２１２及び２１３から選択されたＨＶＲ－Ｌ１配列、配列番号２１９及び２２０から選択されたＨＶＲ－Ｌ２配列、配列番号２２５～２２８及び２４８から選択されたＨＶＲ－Ｌ３配列、または
ｂ）配列番号１５７～１７１、３７６，３８１及び３８２から選択されたＨＶＲ－Ｈ１配列、配列番号１７６～１９９、３７７、３８３及び４０５から選択されたＨＶＲ－Ｈ２配列、配列番号２０２～２１１、３７８、３７９、３８４及び３８５から選択されたＨＶＲ－Ｈ３配列、配列番号２１４～２１８から選択されたＨＶＲ－Ｌ１配列、配列番号２１９～２２４及び３７５から選択されたＨＶＲ－Ｌ２配列、配列番号２２９～２４７から選択されたＨＶＲ－Ｌ３配列を含む前記抗体後半を備える、前記多重特異性抗体。
【請求項３】
前記１つ以上の特性は、前記抗体Ｆｃ領域のエフェクター機能、、前記抗体の補体活性機能、前記抗体の半減期及びＴｆＲに対する前記抗体の親和性から選択される、請求項２に記載の抗体。
【請求項４】
前記１つ以上の特性は、前記抗体Ｆｃ領域のエフェクター機能及び前記抗体の補体　活性機能から選択され、前記エフェクター機能または補体活性機能は同アイソタイプの野生型抗体と比較して低減または除去されている、請求項２または請求項３に記載の抗体。
【請求項５】
前記エフェクター機能は、前記抗体のグリコシル化の減少、自然にエフェクター機能を低減または排除するアイソタイプへの前記抗体アイソタイプの修飾、及びＦｃ領域の修飾から選択される方法によって低減または除去される、請求項４に記載の抗体。
【請求項６】
前記抗体のグリコシル化は、野生型グリコシル化を可能にしない環境での前記抗体の作製、前記抗体上に既に存在する炭水化物基の除去、及び野生型グリコシル化が起こらないような前記抗体の修飾から選択される方法によって低減される、請求項５に記載の抗体。

【請求項７】
前記抗体は、非哺乳類細胞産生系で産生される、または前記抗体は合成的に作製される、請求項６に記載の抗体。
【請求項８】
前記抗体のＦｃ領域は、位置２９７の変異を含み、その位置の野生型アスパラギン残基がその位置のグリコシル化を妨げる別のアミノ酸で置換される、請求項６に記載の抗体。
【請求項９】
モノクローナル抗体である、先行請求項のいずれか１項に記載の抗体。
【請求項１０】
前記第１抗原結合部位は、ヒトであるか、またはヒト化される、先行請求項のいずれか１項に記載の抗体。
【請求項１１】
前記第２抗原結合部位は、ヒトである、先行請求項のいずれか１項に記載の抗体。
【請求項１２】
第１抗原結合部位は、配列番号３１、３３及び３４、配列番号３６、３８及び３９、配列番号３６、４０及び３４、配列番号４２、４３及び４４、配列番号３１、３３及び３４、配列番号４６、４８及び４９、配列番号５２、５４及び５５、配列番号５２、５８及び５９、配列番号６２、６３及び５５、配列番号５２、６５及び５５、配列番号６８、６９及び７０、配列番号７３、７５及び７６、配列番号７９、８１及び８２、配列番号７９、８３及び８４、配列番号８７、８９及び９０、配列番号９３、９５及び９６、配列番号９９、１０１及び１０２、配列番号１２７、３３及び３４、配列番号５２、１５６及び５５、配列番号５２，１５７及び５５、または配列番号１５５，５４及び５５のアミノ酸配列をそれぞれ含むＨＶＲ－Ｌ３、ＨＶＲ－Ｈ２、及びＨＶＲ－Ｈ３を備える、先行請求項のいずれか１項に記載の抗体。
【請求項１３】
前記第１抗原結合部位は、配列番号３２、３３及び３４、配列番号３７、３８及び３９、配列番号３２、４０及び３４、配列番号３７、４３及び４４、配列番号３２、３３及び３４、配列番号４７、４８及び４９、配列番号５３、５４及び５５、配列番号５３、５８及び５９、配列番号５３、６３及び５５、配列番号５３、６５及び５５、配列番号５３、６９及び７０、配列番号７４、７５及び７６、配列番号８０、８１及び８２、配列番号８０、８３及び８４、配列番号８８、８９及び９０、配列番号９４、９５及び９６、配列番号１００、１０１及び１０２、配列番号５３、１５６及び５５または配列番号５３，１５７及び５５のアミノ酸配列をそれぞれ含むＨＶＲ－Ｈ１、ＨＶＲ－Ｈ２、及びＨＶＲ－Ｈ３を備える、先行請求項のいずれか１項に記載の抗体。
【請求項１４】
前記第１抗原結合部位は、配列番号２９、３０及び３１、配列番号３５、３０及び３６、配列番号４１、３０及び４２、配列番号２９、３０及び３１、配列番号４５、３０及び４６、配列番号５０、５１及び５２、配列番号５６、５７及び５２、配列番号６０、６１及び６２、配列番号６０、６４及び５２、配列番号６６、６７及び６８、配列番号７１、７２及び７３、配列番号７７、７８及び７９、配列番号８５、８６及び８７、配列番号９１、９２及び９３、配列番号９７、９８及び９９、配列番号２９、３０及び１２７または配列番号５０，５１及び１５５のアミノ酸配列をそれぞれ含むＨＶＲ－Ｌ１、ＨＶＲ－Ｌ２、及びＨＶＲ－Ｌ３を備える、先行請求項のいずれか１項に記載の抗体。
【請求項１５】
前記第１抗原結合部位は、
ａ）配列番号４７、５３または１００のＨＶＲ－Ｈ１配列、
Ｂ）配列番号４８、６９、１０１、１５６または１５７のＨＶＲ－Ｈ２配列、
ｃ）配列番号４９、７６または１０２のＨＶＲ－Ｈ３配列、
ｄ）配列番号４５、６６または９７のＨＶＲ－Ｌ１配列、
ｅ）配列番号３０、６７または９８のＨＶＲ－Ｌ２配列、及び

ｆ）配列番号４６、６８または１０２のＨＶＲ－Ｌ３配列から選択される少なくとも１つのＨＶＲ－Ｈ１、ＨＶＲ－Ｈ２、ＨＶＲ－Ｈ３、ＨＶＲ－Ｌ１、ＨＶＲ－Ｌ２またはＨＶＲ－Ｌ３を含む、先行請求項のいずれか１項に記載の抗体。

【請求項１６】

前記第１抗原結合部位は、（ａ）配列番号７，８，９，１０，１５，１６，１７，１８，２０，２５，２６，２７，２８，１０８，１１４，１２０，１２６，４０３若しくは４０４のアミノ酸配列と少なくとも９５％の配列同一性を有するＶＨ配列、（ｂ）配列番号４，５，６，１１，１２，１３，１４，１９，２１，２２，２３，２４，１０５，１１１，１１７，１２３，４０１、４０２のアミノ酸配列と少なくとも９５％の配列同一性を有するＶＬ配列、または（ｃ）（ａ）にあるようなＶＨ配列及び（ｂ）にあるようなＶＬ配列を含む、先行請求項のいずれか１項に記載の抗体。

【請求項１７】

前記第１抗原結合部位は、

ａ）配列番号１０８；

ｂ）配列番号１１４；

ｃ）配列番号１２０；

ｄ）配列番号１２６；

ｅ）（配列番号４０３；または

ｆ）配列番号４０４の重鎖可変領域（ＶＨ）配列を含む、先行請求項のいずれか１項に記載の抗体。

【請求項１８】

前記第１抗原結合部位は、

ａ）配列番号１０５；

ｂ）配列番号１１１；

ｃ）配列番号１１７；

ｄ）配列番号１２３；

ｅ）（配列番号４０２；または

ｆ）配列番号４０１の軽鎖可変領域（ＶＬ）配列を含む、先行請求項のいずれか１項に記載の抗体。

【請求項１９】

前記第１抗原結合部位は、

ａ）配列番号１０８のＶＨ配列及び配列番号１０５のＶＬ配列；

ｂ）配列番号１１４のＶＨ配列及び配列番号１１１のＶＬ配列；

ｃ）配列番号１２０のＶＨ配列及び配列番号１１７のＶＬ配列；

ｄ）配列番号１２６のＶＨ配列及び配列番号１２３のＶＬ配列；

ｅ）配列番号４０３のＶＨ配列及び配列番号１０５のＶＬ配列；

ｆ）配列番号４０４のＶＨ配列及び配列番号１０５のＶＬ配列；

ｇ）配列番号１０８のＶＨ配列及び配列番号１５５のＶＬ配列；

ｈ）配列番号１０８のＶＨ配列及び配列番号４０１のＶＬ配列；

ｉ）配列番号１０８のＶＨ配列及び配列番号４０２のＶＬ配列；

ｊ）配列番号４０３のＶＨ配列及び配列番号４０１のＶＬ配列；

ｋ）配列番号４０４のＶＨ配列及び配列番号４０１のＶＬ配列；

ｌ）配列番号４０３のＶＨ配列及び配列番号１０５のＶＬ配列；または

ｍ）配列番号４０４のＶＨ配列及び配列番号１０５のＶＬ配列を含む、先行請求項のいずれか１項に記載の抗体。

【請求項２０】

前記第１抗原結合部位は、７Ａ４、８Ａ２、１５Ｄ２、１０Ｄ１１、７Ｂ１０、１５Ｇ１１、１６Ｇ５、１３Ｃ３、１６Ｇ４、１６Ｆ６、７Ｇ７、４Ｃ２、１Ｂ１２及び１３Ｄ４から選択される抗体の重鎖可変領域及び軽鎖可変領域を含む、先行請求項のいずれか１項に記載の抗体。

【請求項２１】
前記第１抗原結合部位は、１５Ｇ１１．ｖ１，１５Ｇ１１．ｖ２，１５Ｇ１１．ｖ３，１５Ｇ１１．ｖ４，１５Ｇ１１．ｖ５，７Ａ４．ｖ１；７Ａ４．ｖ２，７Ａ４．ｖ３，７Ａ４．ｖ４，７Ａ４．ｖ５，７Ａ４．ｖ６，７Ａ４．ｖ７，７Ａ４．ｖ８、７Ａ４．ｖ９、７Ａ４．ｖ１０、７Ａ４．ｖ１１、７Ａ４．ｖ１２、７Ａ４．ｖ１３、７Ａ４．ｖ１４、７Ａ４．ｖ１５、７Ｇ７．ｖ１、１６Ｆ６．ｖ１、１６Ｆ６．ｖ２、１６Ｆ６．ｖ３、１６Ｆ６．ｖ４、１５Ｇ１１．Ｎ５２Ａ、１５Ｇ１１．Ｔ５３Ａ及び１５Ｇ１１．Ｗ９２Ａから選択される抗体の重鎖可変領域及び軽鎖可変領域を含む、請求項１～１９のいずれか１項に記載の抗体。
【請求項２２】
前記第１抗原結合部位は、図３、図４及び図１９における任意な１つのクローンに対応する配列、または任意な１つのクローンに明記した１つ以上のＨＶＲ配列を含む、先行請求項のいずれか１項に記載の抗体。
【請求項２３】
前記第１抗原結合部位は、抗体７Ａ４、８Ａ２、１５Ｄ２、１０Ｄ１１、７Ｂ１０、１５Ｇ１１、１６Ｇ５、１３Ｃ３、１６Ｇ４、１６Ｆ６、７Ｇ７、４Ｃ２、１Ｂ１２、１３Ｄ４、１５Ｇ１１．ｖ１、１５Ｇ１１．ｖ２、１５Ｇ１１．ｖ３、１５Ｇ１１．ｖ４、１５Ｇ１１．ｖ５、７Ａ４．ｖ１；７Ａ４．ｖ２、７Ａ４．ｖ３、７Ａ４．ｖ４、７Ａ４．ｖ５、７Ａ４．ｖ６、７Ａ４．ｖ７、７Ａ４．ｖ８、７Ａ４．ｖ９、７Ａ４．ｖ１０、７Ａ４．ｖ１１、７Ａ４．ｖ１２、７Ａ４．ｖ１３、７Ａ４．ｖ１４、７Ａ４．ｖ１５、７Ｇ７．ｖ１、１６Ｆ６．ｖ１、１６Ｆ６．ｖ２、１６Ｆ６．ｖ３、１６Ｆ６．ｖ４、１５Ｇ１１．Ｎ５２Ａ、１５Ｇ１１．Ｔ５３Ａまたは１５Ｇ１１．Ｗ９２Ａから選択される抗体と同じＴｆＲ上のエピトープに結合する、先行請求項のいずれか１項に記載の抗体。
【請求項２４】
前記抗体は、約１ｐＭ～約１００μＭのヒトＴｆＲに対する親和性（K_D）を有する、先行請求項のいずれか１項に記載の抗体。
【請求項２５】
前記抗体は、約２０　ｎＭ～１μＭ、または約３０ｎＭ～１μＭ、または約４０ｎＭ～１μＭのヒトＴｆＲに対する親和性（K_D）を有する、先行請求項のいずれか１項に記載の抗体。
【請求項２７】
前記第２抗原結合部位は、表１の抗体から選択される抗体のＨＶＲ－Ｈ１、ＨＶＲ－Ｈ２、ＨＶＲ－Ｈ３、ＨＶＲ－Ｌ１、ＨＶＲ－Ｌ２及びＨＶＲ－Ｌ３を含む、先行請求項のいずれか１項に記載の抗体。
【請求項２８】
前記抗体は、６２６６である、請求項２７に記載の抗体。
【請求項２９】
前記抗体は、配列番号１５のＨＶＲ－Ｈ１；配列番号２９のＨＶＲ－Ｈ２配列、配列番号５２のＨＶＲ－Ｈ３配列、配列番号６５のＨＶＲ－Ｌ１配列、配列番号７１のＨＶＲ－Ｌ２配列、及び配列番号８０のＨＶＲ－Ｌ３配列を含む、請求項２８に記載の抗体。
【請求項３０】
前記第２抗原結合部位は、
ａ）配列番号２４９～２９７、３５２～３５８、及び３６７～３７４から選択されるアミノ酸配列と少なくとも９０％の配列同一性を有する重鎖可変領域配列、または
ｂ）配列番号２９８～３２８、３４５～３５１及び３５９～３６６から選択されるアミノ酸配列と少なくとも９０％の配列同一性を有する軽鎖可変領域配列、または
ｃ）（ａ）にあるような重鎖可変領域配列及び（ｂ）にあるような軽鎖可変ドメイン配列を含む、先行請求項のいずれか１項に記載の抗体。
【請求項３１】
前記第２抗原結合部位は、

ａ）配列番号２４９～２９７、３５２～３５８及び３６７～３７４から選択される重鎖可変領域配列、または
ｂ）配列番号２９８～３２８、３４５～３５１及び３５９～３６６から選択される軽鎖可変領域配列、または
ｃ）（ａ）にあるような重鎖可変領域配列及び（ｂ）にあるような軽鎖可変ドメイン配列を含む、先行請求項のいずれか１項に記載の抗体。
【請求項３２】
前記第２抗原結合部位は、
ａ）配列番号２８８、３５２～３５８及び３６７～３７４から選択される配列と少なくとも９０％の配列同一性を有する重鎖可変ドメイン配列、または
ｂ）配列番号３０６、３４５～３５１及び３５９～３６６から選択される配列と少なくとも９０％の配列同一性を有する軽鎖可変ドメイン配列、または
ｃ）（ａ）にあるような重鎖可変ドメイン配列及び（ｂ）にあるような軽鎖可変ドメイン配列を含む、先行請求項のいずれか１項に記載の抗体。
【請求項３３】
前記第２抗原結合部位は、
ａ）配列番号２８８、３５２～３５８及び３６７～３７４から選択される配列を有する重鎖可変ドメイン配列、または
ｂ）配列番号３０６、３４５～３５１及び３５９～３６６から選択される配列を有する軽鎖可変ドメイン配列、または
ｃ）（ａ）にあるような重鎖可変ドメイン配列及び（ｂ）にあるような軽鎖可変ドメイン配列、または
ｄ）６２６６及び６２６６変異体１－１５から選択される抗体の重鎖可変ドメイン配列及び軽鎖可変ドメイン配列を含む、先行請求項のいずれか１項に記載の抗体。
【請求項３４】
前記抗体は、ＢＡＣＥ１の活性を調節する、先行請求項のいずれか１項に記載の抗体。
【請求項３５】
前記抗体は、ＢＡＣＥ１の活性を阻害する、請求項３４に記載の抗体。
【請求項３６】
ＢＡＣＥ１活性は、均一時間分解蛍光（ＨＴＲＦ）アッセイを使用して測定される、請求項３４または請求項３５に記載の抗体。
【請求項３７】
ＢＡＣＥ１活性は、ＢＡＣＥ１基質を発現する細胞株を使用して測定される、請求項３４または請求項３５に記載の抗体。
【請求項３８】
ＢＡＣＥ１基質は、アミロイド前駆体蛋白質（ＡＰＰ）である、請求項３７に記載の抗体。
【請求項３９】
ＢＡＣＥ１活性は、多重特異性抗体を投与された動物からの組織で測定される、請求項３４または請求項３５に記載の抗体。
【請求項４０】
前記組織は脳組織である、請求項３９に記載の抗体。
【請求項４１】
前記動物は、マウス、ラット、ウサギ、イヌ、サル及び非ヒト霊長類から選択される、請求項３９または請求項４０に記載の抗体。
【請求項４２】
前記抗体は、ＩｇＧ抗体である、先行請求項のいずれか１項に記載の抗体。
【請求項４３】
前記抗体は、ＩｇＧ１またはＩｇＧ４抗体である、請求項４２に記載の抗体。
【請求項４４】

前記抗体は、ＩｇＧ１抗体である、請求項４３に記載の方法。
【請求項４５】
前記抗体は、第１重鎖定常領域及び第２重鎖定常領域を含み、前記第１重鎖定常領域はノブ変異を含み、前記第２重鎖定常領域はホール変異を含む、先行請求項のいずれか１項に記載の抗体。
【請求項４６】
前記第１重鎖定常領域は、前記第１抗原結合部位と融合される、請求項４４に記載の方法。
【請求項４７】
前記第２重鎖定常領域は、前記第２抗原結合部位と融合される、請求項４５または請求項４６に記載の抗体。
【請求項４８】
前記第１重鎖定常領域は、前記第２抗原結合部位と融合される、請求項４５に記載の方法。
【請求項４９】
前記第２重鎖定常領域は、前記第１抗原結合部位と融合される、請求項４５または請求項４８に記載の抗体。
【請求項５０】
前記抗体は、ＩｇＧ１抗体であり、前記ノブ変異はＴ３６６Ｗ変異を含む、請求項４５～４９のいずれか１項に記載の抗体。
【請求項５１】
前記抗体は、ＩｇＧ１抗体であり、前記ホール変異はＴ３６６Ｓ、Ｌ３６８Ａ及びＹ４０７Ｖから選択される少なくとも１つ、少なくとも２つ、または少なくとも３つの変異を含む、請求項４５～５０のいずれか１項に記載の抗体。
【請求項５２】
前記抗体は、ＩｇＧ４抗体であり、前記ノブ変異はＴ３６６Ｗ変異を含む、請求項４５～４９のいずれか１項に記載の抗体。
【請求項５３】
前記抗体は、ＩｇＧ４抗体であり、前記ホール変異はＴ３６６Ｓ、Ｌ３６８Ａ及びＹ４０７Ｖ変異から選択される少なくとも１つ、少なくとも２つ、または少なくとも３つの変異を含む、請求項４５～４９及び５２のいずれか１項に記載の抗体。
【請求項５４】
エフェクター機能は、Ｆｃ領域の少なくとも１つの修飾によって低減または除去される、先行請求項のいずれか１項に記載の抗体。
【請求項５５】
前記エフェクター機能または補体活性化機能は、前記Ｆｃ領域の全部または一部の欠失によって、あるいは例えば前記エフェクター機能または補体活性化機能に適格なＦｃ領域または非Ｆｃ領域を含まないように前記抗体を操作することによって低減または除去される、請求項５４に記載の抗体。
【請求項５６】
前記修飾は、２３４、２３５、２３８、２３９、２４８、２４９、２５２、２５４、２６５、２６８、２６９、２７０、２７２、２７８、２８９、２９２、２９３、２９４、２９５、２９６、２９７、２９８、３０１、３０３、３２２、３２４、３２７、３２９、３３３、３３５、３３８、３４０、３７３、３７６、３８２、３８８、３８９、４１４、４１６、４１９、４３４、４３５、４３７、４３８、及び４３９の位置から選択される１つ以上のＦｃ受容体への結合を損なう前記Ｆｃ領域の点突然変異；２７０、３２２、３２９、及び３２１の位置から選択されるＣ１ｑへの結合を損なう前記Ｆｃ領域の点突然変異；前記Ｆｃ領域の一部または全部の除去、及び前記ＣＨ１ドメインの位置１３２の点突然変異から選択される、請求項５５に記載の抗体。
【請求項５７】

前記修飾は、位置２３４、２３５、２６５、２９７及び３２９から選択される１つ以上のＦｃ受容体への結合を損なう前記Ｆｃ領域の少なくとも１つの点突然変異である、請求項５６に記載の抗体。
【請求項５８】
前記修飾は、位置２９７、または位置２６５及び２９７にある、請求項５７に記載の抗体。
【請求項５９】
前記修飾は、位置２３４、２３５及び３２９にある、請求項５７に記載の抗体。
【請求項６０】
前記修飾は、Ｎ２９７Ｇ；Ｄ２６５Ａ及びＮ２９７ＡまたはＤ２６５Ａ及びＮ２９７Ｇである、請求項５８に記載の抗体。
【請求項６１】
前記修飾は、Ｌ２３４Ａ、Ｌ２３５Ａ、及びＰ３２９Ｇである、請求項５９に記載の抗体。
【請求項６２】
前記抗体は、２５２、２５４、２５６、４３４及び４３６から選択される位置で前記抗体のＦｃＲｎ結合ドメインでの修飾を含む、先行請求項のいずれか１項に記載の抗体。
【請求項６３】
前記半減期は、前記ＦｃＲｎ結合ドメインでの修飾を欠く親適用の半減期より大きい、請求項６２に記載の抗体。
【請求項６４】
前記修飾は、位置２５２、２５４、及び２５６にある、請求項６２または請求項６３に記載の抗体。
【請求項６５】
前記修飾は、位置４３４及び４３６にある、請求項６２または請求項６３に記載の抗体。
【請求項６６】
前記修飾は、Ｍ２５２Ｙ、Ｓ２５４Ｔ及びＴ２５６Ｅである、請求項６４に記載の抗体。
【請求項６７】
前記修飾は、Ｎ４３４Ａ及びＹ４３６Ｉである、請求項６５に記載の抗体。
【請求項６８】
前記抗体前半は第１重鎖及び第１軽鎖を含み、ならび前記に抗体後半は第２重鎖及び第２軽鎖を含み、
ａ）前記第１重鎖及び前記第１軽鎖は、配列番号３２９及び３３０、配列番号３３３及び３３４、配列番号３３７及び３３８、配列番号３４１及び３４２、配列番号３９４及び３４２から選択され、かつ
ｂ）前記第２重鎖及び前記第２軽鎖は、配列番号３３１及び３３２、配列番号３３５及び３３６、配列番号３３９及び３４０、及び配列番号３４３及び３４４から選択される、先行請求項のいずれか１項に記載の抗体。
【請求項６９】
ａ）前記第１重鎖及び前記第１軽鎖は、配列番号３３３及び３３４、配列番号３４１及び３４２、及び配列番号３９４及び３４２から選択され、かつ
ｂ）前記第２重鎖及び前記第２軽鎖は、配列番号３３５及び３３６、及び配列番号３４３及び３４４から選択される、請求項６８に記載の抗体。
【請求項７０】
ヒトトランスフェリン受容体（ＴｆＲ）及び霊長類ＴｆＲに結合する第１抗原結合部位を含む抗体前半とＢＡＣＥ１に結合する第２抗原結合部位を含む抗体後半を含み、
ａ）前記　抗体前半は、配列番号３９４の配列を有する第１重鎖と配列番号３４２の配列を有する第１軽鎖を含み、前記抗体後半は、配列番号３４３の配列を有する第２重鎖と配

列番号３４４の配列を有する第２軽鎖を含む、または、
ｂ）前記抗体前半は、配列番号３９６の配列を含む第１重鎖可変領域と配列番号３９８の配列を含む第１軽鎖可変領域を含み、前記抗体後半は、配列番号３９９の配列を含む第２重鎖可変領域と配列番号４００の配列を含む第２軽鎖可変領域を含む多重特異性抗体。
【請求項７１】
ａ）請求項１～７０のいずれか１項に記載の抗体。
ｂ）請求項１～７０のいずれか１項に記載の抗体前半、または
ｃ）請求項１～７０のいずれか１項に記載の抗体後半、ををコードする単離された核酸
７２．請求項１～７０のいずれか１項に記載の抗体前半をコードする第１単離核酸と請求項１～７０のいずれか１項に記載の抗体後半をコード化する第２単離核酸を含む組成物。
【請求項７３】
請求項７１に記載の核酸または請求項７２に記載の組成物を含む宿主細胞。
【請求項７４】
抗体または半抗体を作成する方法であって、請求項７３に記載の宿主細胞を培養して、抗体または半抗体を作製する、ならびに任意選択で宿主細胞から抗体または半抗体を回収することを含む、前記方法。
【請求項７５】
請求項１～７０のいずれか１項に記載の抗体と薬剤的に許容される担体を含む製剤。
【請求項７６】
網状赤血球レベルまたは急性臨床症状への影響を緩和する、あるいは影響の減少に寄与する化合物を含む、請求項７５に記載の製剤。
【請求項７７】
前記化合物は、網状赤血球を抗体関連の枯渇から保護し、あるいは網状赤血球の成長、発達または再建を支持する、請求項７６に記載の製剤。
【請求項７８】
前記化合物は、エリスロポエチン（ＥＰＯ）、鉄分補充剤、ビタミンＣ、葉酸、およびビタミンＢ１２から選択される、または赤血球若しくは網状赤血球である、請求項７６または請求項７７に記載の製剤。
【請求項７９】
対象における神経疾患または障害を治療する方法であって、請求項１～７０のいずれか１項に記載の抗体の有効量を前記対象に投与することを含む、前記法。
【請求項８０】
神経疾患または障害を患う対象または感染の危険性がある対象におけるアミロイド斑を低減する方法であって、請求項１～７０のいずれか１項に記載の抗体の有効量を前記対象に投与することを含む、方法。
【請求項８１】
神経疾患または障害を患う対象または発達の危険性がある対象におけるアミロイド斑形成を阻害する方法であって、請求項１～７０のいずれか１項に記載の抗体の有効量を前記対象に投与することを含む、方法。
【請求項８２】
前記神経疾患または障害は、アルツハイマー病（ＡＤ）、外傷性脳損傷、脳卒中、緑内障、痴呆、筋ジストロフィー（ＭＤ）、多発性硬化症（ＭＳ）、筋萎縮性側索硬化症（ＡＬＳ）、嚢胞性線維症、Ａｎｇｅｌｍａｎ　症候群、リドル症候群、ページェット病、外傷性脳損傷、レヴィー小体病、ポリオ後症候群、シャイ・ドレーガー症候群、オリーブ橋小脳萎縮、パーキンソン病、多系統萎縮症、線条体黒質変性、核上まひ、牛海綿状脳症、スクラピー、クロイツフェルトーヤコブ症候群、クールー、ゲルストマン・ストロイスラー・シャインカー病、慢性消耗症、致死性家族性不眠症、延髄麻痺、運動ニューロン疾患、カナバン病、ハンチントン舞踏病、ニューロンセロイドーリポフスチノーシス、アレグザンダー病、トゥレット症候群、メンケス癖毛症候群、コケイン症候群、ハレルフォルデンースパッツ症候群、ラフォラ（Ｌａｆｏｒａ）病、レット症候群、肝レンズ核変性症、

レッシューナイハン症候群、ウンフェルリヒト・ルントボルク病、ピック病及び脊髄小脳失調症から選択される、請求項７９～８１のいずれか１項に記載の方法。
【請求項８３】
前記神経疾患または障害は、アルツハイマー病、脳卒中、外傷性脳損傷及び緑内障から選択される、請求項８２に記載の方法。
【請求項８４】
対象におけるアミロイドーβ（Ａβ）蛋白質の低減方法であって、請求項１～７０のいずれか１項に記載の抗体の有効量を前記患者に投与することを含む、方法。
【請求項８５】
前記対象は、神経疾患または障害を患っている、または感染の危険性にある、請求項８４に記載の方法。
【請求項８６】
前記神経疾患または障害は、アルツハイマー病、脳卒中、外傷性脳損傷及び緑内障から選択される、請求項８５に記載の方法。
【請求項８７】
抗体の投与量及び／または投与頻度を調節し、赤血球が曝露される抗体の濃度を低減する、請求項７９～８６のいずれか１項に記載の方法。
【請求項８８】
赤血球の枯渇について前記対象を監視することを更に含む、請求項８７に記載の方法。
【請求項８９】
前記投与はＴｆＲ飽和である、請求項７９～８８のうちのいずれか１項に記載の方法。
【請求項９０】
前記抗体の投与は、前記抗体投与の急性臨床症状を最小化するために調整された用量及び／または投与頻度である、請求項７９～８９のいずれか１項に記載の方法。
【請求項９１】
対象における神経疾患または障害を診断する方法であって、前記対象から単離した生物学的試料と請求項１～７０のいずれか１項に記載の抗体を、ＢＡＣＥ１ポリペプチドへの抗体の結合に好適な条件下で接触すること、及び複合体が抗体とＢＡＣＥ１ポリペプチドの間で形成されるかどうかを検出することを含む、方法。
【請求項９２】
対象が抗ＢＡＣＥ１抗体による治療に適格であるかどうかを決定する方法であって、前記対象から単離した生物学的試料と請求項１～７０のいずれか１項に記載の抗体を、ＢＡＣＥ１ポリペプチドへの抗体の結合に好適な条件下で接触すること、及び複合体が抗体とＢＡＣＥ１ポリペプチドの間で形成されるかどうかを検出することを含み、抗体とＢＡＣＥ１の間の複合体の存在が、抗ＢＡＣＥ１抗体による治療に適格な対象であることを示す、方法、。
【請求項９３】
前記生物学的試料は、血清、血漿、唾液、胃液分泌、粘液、脳脊髄液、リンパ液、神経組織、脳組織、心臓組織または維管束組織から選択される、請求項９１または請求項９２に記載の方法。
【請求項９４】
薬剤として使用するための請求項１～７０のいずれか１項に記載の抗体。
【請求項９５】
神経障害の治療で用いる、請求項１～７０のいずれか１項に記載の抗体。
【請求項９６】
アルツハイマー病（ＡＤ）、外傷性脳損傷、脳卒中、緑内障、痴呆、筋ジストロフィー（ＭＤ）、多発性硬化症（ＭＳ）、筋萎縮性側索硬化症（ＡＬＳ）、嚢胞性線維症、Ａｎｇｅｌｍａｎ　症候群、リドル症候群、ページェット病、外傷性脳損傷、レヴィー小体病、ポリオ後症候群、シャイ・ドレーガー症候群、オリーブ橋小脳萎縮、パーキンソン病、多系統萎縮症、線条体黒質変性、核上まひ、牛海綿状脳症、スクラピー、クロイツフェル

トーヤコブ症候群、クールー、ゲルストマン・ストロイスラー・シャインカー病、慢性消耗症、致死性家族性不眠症、延髄麻痺、運動ニューロン疾患、カナバン病、ハンチントン舞踏病、ニューロンセロイドーリポフスチノーシス、アレグザンダー病、トゥレット症候群、メンケス癖毛症候群、コケイン症候群、ハレルフォルデンースパッツ症候群、ラフォラ（Ｌａｆｏｒａ）病、レット症候群、肝レンズ核変性症、レッシューナイハン症候群、ウンフェルリヒト・ルントボルク病、ピック病及び脊髄小脳失調症から選択される神経障害の治療で用いる、請求項９５に記載の抗体。

【請求項９７】

アミロイドーβ（Ａβ）蛋白質産生の減少及び／または阻害で用いる、請求項１～７０のいずれか１項に記載の抗体。

【請求項９８】

薬剤の製造における、請求項１～７０のいずれか１項に記載の抗体の使用。

【請求項９９】

薬剤は、アルツハイマー病（ＡＤ）、外傷性脳損傷、脳卒中、緑内障、痴呆、筋ジストロフィー（ＭＤ）、多発性硬化症（ＭＳ）、筋萎縮性側索硬化症（ＡＬＳ）、嚢胞性線維症、Ａｎｇｅｌｍａｎ　症候群、リドル症候群、ページェット病、外傷性脳損傷、レヴィー小体病、ポリオ後症候群、シャイ・ドレーガー症候群、オリーブ橋小脳萎縮、パーキンソン病、多系統萎縮症、線条体黒質変性、核上まひ、牛海綿状脳症、スクラピー、クロイツフェルトーヤコブ症候群、クールー、ゲルストマン・ストロイスラー・シャインカー病、慢性消耗症、致死性家族性不眠症、延髄麻痺、運動ニューロン疾患、カナバン病、ハンチントン舞踏病、ニューロンセロイドーリポフスチノーシス、アレグザンダー病、トゥレット症候群、メンケス癖毛症候群、コケイン症候群、ハレルフォルデンースパッツ症候群、ラフォラ（Ｌａｆｏｒａ）病、レット症候群、肝レンズ核変性症、レッシューナイハン症候群、ウンフェルリヒト・ルントボルク病、ピック病及び脊髄小脳失調症の群から選択される神経障害の治療用である、請求項９８に記載の使用。

【請求項１００】

前記薬剤は、アミロイドーβ（Ａβ）蛋白質産生の低減及び／または阻害用である、請求項９８に記載の使用。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【０００１】

関連出願の相互参照

本出願は米国特許仮出願第６２／０８１，９６５号（２０１４年１１月１９日出願）の優先権の利益を主張するものであり、如何なる目的に対しても参照によりその全体が本明細書に援用される。

【０００２】

配列表

本出願は、電子形式の配列表と共に出願される。配列表は、２０１５年１１月１８日に作成されたサイズが３５２，０４０バイトの「２０１５－１１－１８＿０１１４６－００４１－００ＰＣＴ＿ＳＴ２５．ｔｘｔ」と題されたファイルとして提供される。この配列表の電子形式の情報は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。

【０００３】

本発明は、トランスフェリン受容体及びＢＡＣＥ１に結合する多重特異性抗体ならびにそれらを使用する方法に関する。

【背景技術】

【０００４】

巨大分子薬剤の脳透過性は、ほとんど不浸透性の血液－脳関門（ＢＢＢ）によって激しく制限される。この障壁を克服するための多くの戦略の１つは脳血管内皮で発現される内因性受容体のトランスサイトーシス輸送経路を利用することである。モノクローナル抗体のような組換蛋白質がこれらの受容体に対してために設計されいる。血液へ戻る逆トラン

スサイトーシスを最小化しながら脳への取り込みを最大化し、また治療的投与後に蓄積度も最大化する戦略は、ＢＢＢ受容体への低親和性の抗体が、かかる受容体への一般的な高親和性抗体と比較して、実質的にＢＢＢ輸送を増大させる可能性、及び関連治療的部分／分子のＣＮＳ保持を提示するという知見をもって取り組まれている（Ａｔｗａｌ ｅｔ ａｌ．，Ｓｃｉ．Ｔｒａｎｓｌ．Ｍｅｄ．３，８４ｒａ４３（２０１１）；Ｙｕ ｅｔ ａｌ．，Ｓｃｉ．Ｔｒａｎｓｌ．Ｍｅｄ．２５ Ｍａｙ ２０１１： Ｖｏｌ．３，Ｉｓｓｕｅ ８４，ｐ．８４ｒａ４４）。しかし、それらの抗体は、ヒト及び霊長類ＴｆＲに特異的に結合しなかった。

【発明の概要】

【０００５】

モノクローナル抗体は神経系または中枢神経系（ＣＮＳ）疾患の治療に大きな治療的可能性を有するが、脳への通過は血液－脳関門（ＢＢＢ）によって制限される。過去の研究から、血流を循環するＩｇＧのごくわずかな割合（およそ０．１％）しかＣＮＳへＢＢＢを横断しないことが判明（Ｆｅｌｇｅｎｈａｕｅｒ，Ｋｌｉｎ．Ｗｓｃｈｒ．５２： １１５８－１１６４（１９７４））しており、ここで抗体のＣＮＳにおける濃度は強い影響を可能とするにには不十分である。以前、ＣＮＳへ分散する抗体の割合がＢＢＢ受容体（すなわちトランスフェリン受容体、インシュリン受容体など）を利用することによって改善できることが発見された（例えば、国際出願公開第９５０２４２１号を参照）。例えば、抗ＢＢＢ受容体抗体は、ＣＮＳでの１つ以上の所望標的に対して多重特異的にさせる、または１つ以上の異種分子を抗ＢＢＢ受容体抗体に結合させることが可能であり、いずれの場合でも、抗ＢＢＢ受容体抗体はＢＢＢ を横断したＣＮＳへの治療用分子の輸送を支援することが可能である。

【０００６】

しかし、一般に、従来型特異的高親和性抗体によるＢＢＢ受容体の標的化はＢＢＢ輸送の増加に限界を生じた。後に、試験した抗ＢＢＢ抗体の間で、ＣＮＳへの抗体取り込み及びＣＮＳでのＣＮＳ分散の規模がＢＢＢ受容体に対する結合親和性と逆相関することが、出願者によって見出された。例えば、治療量レベルで投与したトランスフェリン受容体（ＴｆＲ）に対して低親和性の抗体は、より高親和性抗ＴｆＲ抗体と比較してＢＢＢ輸送および抗ＴｆＲ抗体のＣＮＳ保持を大きく改善させ、ＣＮＳでの治療濃度をより容易に達成することができる（Ｙｕ ｅｔ ａｌ．，Ｓｃｉ．Ｔｒａｎｓｌ．Ｍｅｄ．３，８４ｒａ４４（２０１１））。かかるＢＢＢ輸送の証明は、ＴｆＲ及びアミロイド前駆体蛋白質（ＡＰＰ）開裂酵素、β－セクレターゼ（ＢＡＣＥ１）の両方に結合する二重特異性抗体を使用して達成された。本発明の方法論を使用して設計した二重特異性抗ＴｆＲ／ＢＡＣＥ１抗体の単回全身投与は、単一特異性抗ＢＡＣＥ１だけと比較して、脳での顕著な抗体吸収だけでなく、脳$Aβ_{1-40}$ レベルも劇的に減少させたが、これはＢＢＢ貫通が抗ＢＡＣＥ１の能力に影響することを示唆する。（Ａｔｗａｌ ｅｔ ａｌ．，Ｓｃｉ．Ｔｒａｎｓｌ．Ｍｅｄ．３，８４ｒａ４３（２０１１）；Ｙｕ ｅｔ ａｌ．，Ｓｃｉ．Ｔｒａｎｓｌ．Ｍｅｄ．３，８４ｒａ４４（２０１１））。

【０００７】

これらのデータ及び実験は、より低親和性抗体手法を使ってＣＮＳへの抗体の取り込みを増加させる幾つかの原因機構を浮き彫りにした。第１に、高親和性抗ＢＢＢ受容体（ＢＢＢ－Ｒ）抗体（例えば、前述のＹｕ等の抗TfR^{A}）は、脳血管系でＢＢＢ－Ｒを迅速に飽和させることによって脳の取込みを制限するため、脳へ取り込まれる抗体の総量が減少し、血管系への分散も制限される。際立って、ＢＢＢ－Ｒに対する親和性の低下が脳の取込み及び分散を改善し、脈管系からニューロンへの強力な局在化シフトが観察され、関連神経網がＣＮＳ内に分散した。第２に、ＢＢＢ－Ｒに対する抗体の低親和性は、ＢＢＢ－Ｒに対する抗体の全体親和性が低く、ＢＢＢのＣＮＳ側での抗体の局所的濃縮がＣＮＳ区画への抗体の急速な分散に起因して非飽和化するので、膜のＣＮＳ 側からＢＢＢ－Ｒを経由してＢＢＢの脈管側へ戻る抗体能力を損なうことが提示されている。第３に、インビボで、そしてＴｆＲ系で観察されるように、ＢＢＢ－Ｒに対してより低い親和性をもつ

抗体は、ＢＢＢ－Ｒに対してより高い親和性をもつ抗体と同程度、効率的に系から除去されないので、高親和性の対応物より高い循環濃度で残留する。より低親和性抗体の循環抗体レベルは、より高親和性抗体より、より長期間治療レベルで持続されるので有利であり、これが結果的により長期間脳における抗体の取込みを向上させる。更にまた、血漿及び脳曝露の両方での改善は、診療所での投与頻度を減少させることができ、これは、患者コンプライアンス及び簡便性のみならず抗体及び／または抗体に結合した治療化合物のあらゆる潜在的副作用またはオフターゲット効果を弱める点でも潜在的利益をもつであろう。

【０００８】

トランスフェリンとＴｆＲの間の自然な結合との干渉を回避し、それで鉄輸送関係副作用の可能性を回避するように、上の参照された研究に記載された低親和性ＢＢＢ－Ｒ抗体を選択／設計した。それにもかかわらず、マウスでの特定抗体の投与時に多少の顕著な副作用が観察された。マウスは、網状赤血球集団の強力な涸渇の一次応答を、急性臨床病徴の急速な発症を伴って示した。マウスは、やがて急性臨床病徴及び網状赤血球レベル低下の両方から回復しが、抗ＴｆＲ抗体が治療用分子として安全に使用できるためには網状赤血球への影響を回避するか、そうでなければ軽減することが明らかに望ましい。抗ＴｆＲ投与への一次応答（強力な網状赤血球消耗及び急性臨床徴候）が、主に抗体の抗体依存－細胞媒介細胞傷害性（ＡＤＣＣ）によって駆動される一方、残留の網状赤血球枯渇効果は補体経路によって媒介されることがわかった。例えば、２０１３，Ｓｃｉ．Ｔｒａｎｓｌ．Ｍｅｄ．，５：　１８３ｒａ５７を参照されたい。

【０００９】

これらの先行研究は、マウスＴｆＲに特異的に結合するマウス抗体を利用したが、特に霊長類またはヒトＴｆＲを認識しなかった。従って、ヒトでの治療的または診断的使用に先立って抗体を使った霊長類における安全性及び有効性試験査を容易にするため、霊長類及びヒトＴｆＲの両方を特異的に認識する抗体及びその機能部分を提供する。本明細書で提供する抗ヒトＴｆＲ抗体で処理したヒト赤芽球細胞株及び一次骨髄細胞を使用したインビトロ試験は、ＴｆＲ陽性赤芽細胞の強力な枯渇は、マウスで観察されたのと同様にヒト／霊長類細胞系でも観察されることを示す（例えば、実施例４を参照）。従って、治療濃度で投与された抗ヒト／霊長類ＴｆＲ抗体によって提供されるＢＢＢ輸送の向上、ＣＮＳ分散及びＣＮＳ保持の増大も可能にしながら、抗ＴｆＲ投与と同時にＴｆＲを発現する網状赤血球集団の不必要な減少を大きく抑制または排除するような抗体への改変も本明細書で提供される。一次及び残留網状赤血球の両枯渇に及ぼす抗ＴｆＲ抗体の観察される影響を緩和するための幾つかの一般的な手法を本明細書で提供しており、単独又は組合わせで使用することができる。

【００１０】

１つの手法では、ＡＤＣＣ活性を抑制または排除するために、抗ヒト／ｃｙｎｏＴｆＲ抗体のエフェクター機能を抑制または排除する。別の手法では、抗体の網状赤血球集団との相互作用が網状赤血球集団への有害性をより少なくするように、ヒトまたは霊長類ＴｆＲに対する抗ヒト／ｃｙｎｏ　ＴｆＲ抗体の親和性を一層弱める。第３の方法は、抗体の潜在的に有害な濃度への網状赤血球集団の曝露を抑制するために血漿中の抗ヒト／ｃｙｎｏ　ＴｆＲ抗体の量を低減することを対象とする。第４の方法は、例えば、抗ヒト／ｃｙｎｏ　ＴｆＲ　抗体の投与による循環または骨髄の網状赤血球集団のいかなる潜在的喪失も回避、減弱または軽減されるように、網状赤血球集団を保護、安定化及び／または補充することを探求する。

【００１１】

本明細書に記載したように、エフェクター機能の減少または除去が以下、（ｉ）抗体の野生型哺乳類グリコシル化の減少または排除（例えば、かかるグリコシル化を起こすことができない環境で抗体を産生することによる、抗体がグリコシル化できないように１つ以上の炭水化物結合部位を変異させることによる、あるいは　グリコシル化された後に抗体から１つ以上の炭水化物を化学的または酵素的に除去することによる）、（ｉｉ）抗ヒト／ｃｙｎｏ　ＴｆＲ抗体のＦｃ　受容体－結合能力の減少または除去（例えば、Ｆｃ　領

域の変異による、Ｆｃ　領域内部の欠失またはＦｃ領域の除去による）、または、（ｉｉｉ）最小または全くエフェクター機能のないことが知られている抗体アイソタイプ（すなわち、ＩｇＧ４を含むがこれに限らない）の利用によって達成することができる。

【００１２】

本明細書に記載したように、抗体補体活性化の減少は、抗ヒト／ｃｙｎｏ　ＴｆＲ抗体のＣ１ｑ結合能力の抑制または除去（例えば、Ｆｃ　領域の変異、Ｆｃ領域内部の欠失またはＦｃ　領域の除去、あるいは抗ヒトｃｙｎｏ　ＴｆＲ抗体の非Ｆｃ　部分の修飾による）、またはそうでなければ補体系の活性化または活性を抑制（例えば、１つ以上の補体経路活性化または補体経路活性抑制剤の同時投与による）することによって達成することができる。

【００１３】

高レベルのＴｆＲを発現する網状赤血球または他の細胞型上のヒトまたはｃｙｎｏ　ＴｆＲ　への抗ヒト／ｃｙｎｏ　ＴｆＲ抗体の結合がそれらの枯渇を引き起こす場合、抗ヒト／ｃｙｎｏ　ＴｆＲ　抗体について本明細書で例証したように、網状赤血球または他の細胞型上のヒトまたはｃｙｎｏ　ＴｆＲへの抗体の結合の減少が、次いで抗体投与時に観察される循環または骨髄での網状赤血球または他の細胞型枯渇の量を減少させるはずである。霊長類またはヒトＴｆＲに対する抗ヒト／ｃｙｎｏ　ＴｆＲ抗体の親和性は、本明細書で記載する任意の方法を使用して、また実施例で示したように改変することができる。

【００１４】

抗体の潜在的に有害な濃度への網状赤血球集団の曝露を減少させるために、血漿中の抗ヒト／ｃｙｎｏ　ＴｆＲ抗体量を低減することが幾つかの方法で達成することができる。１つの方法は、例えば、血漿中の最大濃度を低下させ、まだ細胞枯渇副作用の閾値以下であるが効能に関しては十分な血清レベルを維持するように、場合によっては投薬頻度を増やすこともしながら投与される抗体量を単に減らすことである。投与量変更と組み合わせることができる別の方法は、例えばｐＨ　７．４　で血漿中の細胞表面ＴｆＲに結合し、本明細書で記載するような所望の低親和性は得られるが、エンドソーム区画への内部移行と同時に、ＴｆＲへのかかる結合が、その区画の比較的低い　ｐＨ（ｐＨ　５．５－６．０）で急速かつ顕著に減少するように、ｐＨ感受性ＴｆＲ結合を有する抗ＴｆＲ抗体を選別または設計することである。かかる解離は、抗原仲介クリアランスから抗体を保護することができ、あるいはＣＮＳへ輸送される抗体の量またはＢＢＢ　を横断して再循環して戻る抗体の量を増加させることができる。いずれの場合でも、抗体の投与用量を増やさずに、抗体の有効濃度が、かかるｐＨ感受性を含まない抗ＴｆＲ抗体と比較して増加し、次いで、同時に副作用のリスクが低下したより低用量の抗体を許容する可能性がある。

【００１５】

網状赤血球集団の保護、安定化及び／または補充は製剤的または物理的方法を使用して達成することができる。抗ヒト／ｃｙｎｏ　ＴｆＲ　抗体に加えて、網状赤血球集団上の抗体の負の副作用を軽減する少なくとも１つの更なる治療薬を共投与（同時または順次に）することができる。かかる治療薬の例としては、限定はされないが、エリスロポエチン（ＥＰＯ）、鉄分補充剤、ビタミンＣ、葉酸およびビタミンＢ１２が挙げられる。例えば、別の個体の類似血液型であってもよい、または抗ヒト／ｃｙｎｏ　ＴｆＲ抗体が投与される対象からあらかじめ抽出してもよい類似細胞による輸血による赤血球（すなわち、網状赤血球）の物理的置換も可能である。

【００１６】

当業者の一人であれば、前記方法の任意の組み合わせを用いて、（ｉ）ＣＮＳへの抗体及び任意なコンジュゲート化合物の輸送を最大化するであろう霊長類またはヒトＴｆＲに対して所望の低親和性、（ｉｉ）治療効果を有するためにＣＮＳに存在する必要がある化合物の量と関連する理由から、ＣＮＳ抗原に対するコンジュゲート化合物の親和性（非限定例としては、抗ヒト／ｃｙｎｏ　ＴｆＲ抗体における２番目またはそれ以上の抗原結合特異性が含まれる）の親和性、（ｉｉｉ）抗ヒト／ｃｙｎｏＴｆＲ抗体のクリアランス速度、（ｉｖ）ＣＮＳ／ＢＢＢの脳側でコンジュゲート化合物の放出を促進させる低ｐＨで

の抗ＴｆＲ／コンジュゲート化合物の反応活性度、及び（ｖ）網状赤血球集団への影響の間の最適な均衡をもって抗体（及び／またはそのための投与計画）を設計することができることは理解されよう。

【００１７】

また、抗ＴｆＲ抗体投与の本明細書で認められた網状赤血球枯渇効果は網状赤血球の過剰増殖が問題となる任意の疾患または障害の治療に有用であるは理解されよう。例として、先天性多血球血症または腫瘍性真性多血症において、例えば網状赤血球の過剰増殖による赤血球数の上昇が血液の濃厚化及び随伴性生理的症状をもたらす。抗体の少なくとも部分的なエフェクター機能が保存されている抗ヒト／ｃｙｎｏ　ＴｆＲ抗体の投与は、ＣＮＳへの正常トランスフェリン輸送に影響を与えることなく未熟な網状赤血球集団の選択的な除去を可能にするであろう。当該技術分野では十分に理解されているように、かかる抗体の投与は例えば急性臨床症状が最小化され得るように（すなわち、非常に低用量または広間隔のインターバルで投与することによって）調節できる。

【００１８】

抗ＴｆＲ／ＢＡＣＥ１及び抗ＴｆＲ／Ａｂｅｔａはそれぞれアルツハイマー病の治療のための有望かつ新規な候補である。更に、受容体媒介輸送（ＲＭＴ）に基づく二重特異性標的化技術が、広範なＣＮＳ疾患用の潜在的治療法への門戸を開く。本発明は、網状赤血球の枯渇を伴わずに治療薬のＢＢＢ横断輸送及びＣＮＳ分散を大きく改善するＢＢＢ浸透治療を設計する方法を提供する。

【００１９】

従って、いくつかの実施形態では、ヒトトランスフェリン受容体（ＴｆＲ）及び霊長類ＴｆＲに結合する抗体であって、ＴｆＲへのトランスフェリンの結合を阻害しないでＢＡＣＥ１にも結合する単離多重特異性抗体を提供する。いくつかの態様では、結合は特異的結合である。いくつかの実施形態では、網状赤血球への抗体の影響を低減または除去する、及び／または抗体で処置した対象または哺乳類の急性臨床症状の重症度または存在を低減させる目的で抗体の１つ以上の特性が改変されている。別の態様では、更に、抗体はＴｆＲへのヒト血色素症タンパク質（「ＨＦＥ」）の結合を阻害しない。いくつかの態様において、結合は特異的結合である。いくつかの態様において、抗体は、モノクローナル抗体である。いくつかの態様において、抗体は、ヒト抗体である。いくつかの態様において、抗体は、ヒト化抗体である。いくつかの態様において、抗体は、キメラ抗体である。いくつかの態様において、抗体は、ヒトＴｆＲ及び霊長類ＴｆＲ、ならびにＢＡＣＥ１にも結合する抗体フラグメントである。別の態様において、霊長類ＴｆＲはカニクイザル由来である。

【００２０】

上の実施形態のいくつかの態様において、多重特異性抗体の抗ＴｆＲアームは、それぞれ配列番号３１、３３及び３４のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３、ＨＶＲ－Ｈ２及びＨＶＲ－Ｈ３を含む。上の実施形態の別の態様において、多重特異性抗体の抗ＴｆＲアームは、それぞれ配列番号３６、３８及び３９のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３、ＨＶＲ－Ｈ２及びＨＶＲ－Ｈ３を含む。上の実施形態の別の態様において、多重特異性抗体の抗ＴｆＲアームは、それぞれ配列番号３６、４０及び３４のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３、ＨＶＲ－Ｈ２及びＨＶＲ－Ｈ３を含む。上の実施形態の別の態様において、多重特異性抗体の抗ＴｆＲアームは、それぞれ配列番号４２、４３及び４４のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３、ＨＶＲ－Ｈ２及びＨＶＲ－Ｈ３を含む。上の実施形態の別の態様において、多重特異性抗体の抗ＴｆＲアームは、それぞれ配列番号３１、３３及び３４のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３、ＨＶＲ－Ｈ２及びＨＶＲ－Ｈ３を含む。上の実施形態の別の態様において、多重特異性抗体の抗ＴｆＲアームは、それぞれ配列番号４６、４８及び４９のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３、ＨＶＲ－Ｈ２及びＨＶＲ－Ｈ３を含む。上の実施形態の別の態様において、多重特異性抗体の抗ＴｆＲアームは、それぞれ配列番号５２、５４及び５５のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３、ＨＶＲ－Ｈ２及びＨＶＲ－Ｈ３を含む。上の実施形態の別の態様において、多重特異性抗体の抗ＴｆＲアームは、それぞれ配列番号

５２、５８及び５９のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３、ＨＶＲ－Ｈ２及びＨＶＲ－Ｈ３を含む。上の実施形態の別の態様において、多重特異性抗体の抗ＴｆＲアームは、それぞれ配列番号６２、６３及び５５のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３、ＨＶＲ－Ｈ２及びＨＶＲ－Ｈ３を含む。上の実施形態の別の態様において、多重特異性抗体の抗ＴｆＲアームは、それぞれ配列番号５２、６５及び５５のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３、ＨＶＲ－Ｈ２及びＨＶＲ－Ｈ３を含む。上の実施形態の別の態様において、多重特異性抗体の抗ＴｆＲアームは、それぞれ配列番号６８、６９及び７０のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３、ＨＶＲ－Ｈ２及びＨＶＲ－Ｈ３を含む。上の実施形態の別の態様において、多重特異性抗体の抗ＴｆＲアームは、それぞれ配列番号７３、７５及び７６のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３、ＨＶＲ－Ｈ２及びＨＶＲ－Ｈ３を含む。上の実施形態の別の態様において、多重特異性抗体の抗ＴｆＲアームは、それぞれ配列番号７９、８１及び８２のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３、ＨＶＲ－Ｈ２及びＨＶＲ－Ｈ３を含む。上の実施形態の別の態様において、多重特異性抗体の抗ＴｆＲアームは、それぞれ配列番号７９、８３及び８４のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３、ＨＶＲ－Ｈ２及びＨＶＲ－Ｈ３を含む。上の実施形態の別の態様において、多重特異性抗体の抗ＴｆＲアームは、それぞれ配列番号８７、８９及び９０のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３、ＨＶＲ－Ｈ２及びＨＶＲ－Ｈ３を含む。上の実施形態の別の態様において、多重特異性抗体の抗ＴｆＲアームは、それぞれ配列番号９３、９５及び９６のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３、ＨＶＲ－Ｈ２及びＨＶＲ－Ｈ３を含む。上の実施形態の別の態様において、多重特異性抗体の抗ＴｆＲアームは、それぞれ配列番号９９、１０１及び１０２のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３、ＨＶＲ－Ｈ２及びＨＶＲ－Ｈ３を含む。上の実施形態の別の態様において、多重特異性抗体の抗ＴｆＲアームは、それぞれ配列番号１２７、３３及び３４のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３、ＨＶＲ－Ｈ２及びＨＶＲ－Ｈ３を含む。上の実施形態の別の態様において、多重特異性抗体の抗ＴｆＲアームは、それぞれ配列番号５２、１５６及び５５のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３、ＨＶＲ－Ｈ２及びＨＶＲ－Ｈ３を含む。上の実施形態の別の態様において、多重特異性抗体の抗ＴｆＲアームは、それぞれ配列番号５２、１５７及び５５のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３、ＨＶＲ－Ｈ２及びＨＶＲ－Ｈ３を含む。上の実施形態の別の態様において、多重特異性抗体の抗ＴｆＲアームは、それぞれ配列番号１５５、５４及び５５のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３、ＨＶＲ－Ｈ２及びＨＶＲ－Ｈ３を含む。

【００２１】

上の実施形態のいくつかの態様において、多重特異性抗体の抗ＴｆＲアームは、それぞれ配列番号３２、３３及び３４のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、ＨＶＲ－Ｈ２及びＨＶＲ－Ｈ３を含む。上の実施形態の別の態様において、多重特異性抗体の抗ＴｆＲアームは、それぞれ配列番号３７、３８及び３９のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、ＨＶＲ－Ｈ２及びＨＶＲ－Ｈ３を含む。上の実施形態の別の態様において、多重特異性抗体の抗ＴｆＲアームは、それぞれ配列番号３２、４０及び３４のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、ＨＶＲ－Ｈ２及びＨＶＲ－Ｈ３を含む。上の実施形態の別の態様において、多重特異性抗体の抗ＴｆＲアームは、それぞれ配列番号３７、４３及び４４のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、ＨＶＲ－Ｈ２及びＨＶＲ－Ｈ３を含む。上の実施形態の別の態様において、多重特異性抗体の抗ＴｆＲアームは、それぞれ配列番号３２、３３及び３４のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、ＨＶＲ－Ｈ２及びＨＶＲ－Ｈ３を含む。上の実施形態の別の態様において、多重特異性抗体の抗ＴｆＲアームは、それぞれ配列番号４７、４８及び４９のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、ＨＶＲ－Ｈ２及びＨＶＲ－Ｈ３を含む。上の実施形態の別の態様において、多重特異性抗体の抗ＴｆＲアームは、それぞれ配列番号５３、５４及び５５のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、ＨＶＲ－Ｈ２及びＨＶＲ－Ｈ３を含む。上の実施形態の別の態様において、多重特異性抗体の抗ＴｆＲアームは、それぞれ配列番号５３、５８及び５９のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、ＨＶＲ－Ｈ２及びＨＶＲ－Ｈ３を含む。上の実施形態の別の態様において、多重特異性抗体の抗ＴｆＲアームは、それぞれ配列番号５３、６３及び５５のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、ＨＶＲ－Ｈ２及びＨＶＲ－Ｈ３を含む。上の実施形態の別の態様において、多重特異性抗体の抗ＴｆＲアーム

は、それぞれ配列番号５３、６５及び５５のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、ＨＶＲ－Ｈ２及びＨＶＲ－Ｈ３を含む。上の実施形態の別の態様において、多重特異性抗体の抗ＴｆＲアームは、それぞれ配列番号５３、６９及び７０のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、ＨＶＲ－Ｈ２及びＨＶＲ－Ｈ３を含む。上の実施形態の別の態様において、多重特異性抗体の抗ＴｆＲアームは、それぞれ配列番号７４、７５及び７６のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、ＨＶＲ－Ｈ２及びＨＶＲ－Ｈ３を含む。上の実施形態の別の態様において、多重特異性抗体の抗ＴｆＲアームは、それぞれ配列番号８０、８１及び８２のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、ＨＶＲ－Ｈ２及びＨＶＲ－Ｈ３を含む。上の実施形態の別の態様において、多重特異性抗体の抗ＴｆＲアームは、それぞれ配列番号８０、８３及び８４のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、ＨＶＲ－Ｈ２及びＨＶＲ－Ｈ３を含む。上の実施形態の別の態様において、多重特異性抗体の抗ＴｆＲアームは、それぞれ配列番号８８、８９及び９０のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、ＨＶＲ－Ｈ２及びＨＶＲ－Ｈ３を含む。上の実施形態の別の態様において、多重特異性抗体の抗ＴｆＲアームは、それぞれ配列番号９４、９５及び９６のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、ＨＶＲ－Ｈ２及びＨＶＲ－Ｈ３を含む。上の実施形態の別の態様において、多重特異性抗体の抗ＴｆＲアームは、それぞれ配列番号１００、１０１及び１０２のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、ＨＶＲ－Ｈ２及びＨＶＲ－Ｈ３を含む。上の実施形態の別の態様において、多重特異性抗体の抗ＴｆＲアームは、それぞれ配列番号５３、１５６及び５５のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、ＨＶＲ－Ｈ２及びＨＶＲ－Ｈ３を含む。上の実施形態の別の態様において、多重特異性抗体の抗ＴｆＲアームは、それぞれ配列番号５３、１５７及び５５のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、ＨＶＲ－Ｈ２及びＨＶＲ－Ｈ３を含む。

【００２２】

上の実施形態のいくつかの態様において、多重特異性抗体の抗ＴｆＲアームは、それぞれ配列番号２９、３０及び３１のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、ＨＶＲ－Ｌ２及びＨＶＲ－Ｌ３を含む。上の実施形態の別の態様において、多重特異性抗体の抗ＴｆＲアームは、それぞれ配列番号３５、３０及び３６のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、ＨＶＲ－Ｌ２及びＨＶＲ－Ｌ３を含む。上の実施形態の別の態様において、多重特異性抗体の抗ＴｆＲアームは、それぞれ配列番号４１、３０及び４２のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、ＨＶＲ－Ｌ２及びＨＶＲ－Ｌ３を含む。上の実施形態の別の態様において、多重特異性抗体の抗ＴｆＲアームは、それぞれ配列番号２９、３０及び３１のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、ＨＶＲ－Ｌ２及びＨＶＲ－Ｌ３を含む。上の実施形態の別の態様において、多重特異性抗体の抗ＴｆＲアームは、それぞれ配列番号４５、３０及び４６のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、ＨＶＲ－Ｌ２及びＨＶＲ－Ｌ３を含む。上の実施形態の別の態様において、多重特異性抗体の抗ＴｆＲアームは、それぞれ配列番号５０、５１及び５２のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、ＨＶＲ－Ｌ２及びＨＶＲ－Ｌ３を含む。上の実施形態の別の態様において、多重特異性抗体の抗ＴｆＲアームは、それぞれ配列番号５６、５７及び５２のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、ＨＶＲ－Ｌ２及びＨＶＲ－Ｌ３を含む。上の実施形態の別の態様において、多重特異性抗体の抗ＴｆＲアームは、それぞれ配列番号６０、６１及び６２のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、ＨＶＲ－Ｌ２及びＨＶＲ－Ｌ３を含む。上の実施形態の別の態様において、多重特異性抗体の抗ＴｆＲアームは、それぞれ配列番号６０、６４及び５２のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、ＨＶＲ－Ｌ２及びＨＶＲ－Ｌ３を含む。上の実施形態の別の態様において、多重特異性抗体の抗ＴｆＲアームは、それぞれ配列番号６６、６７及び６８のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、ＨＶＲ－Ｌ２及びＨＶＲ－Ｌ３を含む。上の実施形態の別の態様において、多重特異性抗体の抗ＴｆＲアームは、それぞれ配列番号７１、７２及び７３のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、ＨＶＲ－Ｌ２及びＨＶＲ－Ｌ３を含む。上の実施形態の別の態様において、多重特異性抗体の抗ＴｆＲアームは、それぞれ配列番号７７、７８及び７９のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、ＨＶＲ－Ｌ２及びＨＶＲ－Ｌ３を含む。上の実施形態の別の態様において、多重特異性抗体の抗ＴｆＲアームは、それぞれ配列番号８５、８６及び８７のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、ＨＶＲ－Ｌ２及びＨＶＲ－Ｌ３を含む。上の実施形態の別の態様

において、多重特異性抗体の抗ＴｆＲアームは、それぞれ配列番号９１、９２及び９３のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、ＨＶＲ－Ｌ２及びＨＶＲ－Ｌ３を含む。上の実施形態の別の態様において、多重特異性抗体の抗ＴｆＲアームは、それぞれ配列番号９７、９８及び９９のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、ＨＶＲ－Ｌ２及びＨＶＲ－Ｌ３を含む。上の実施形態の別の態様において、多重特異性抗体の抗ＴｆＲアームは、それぞれ配列番号２９、３０及び１２７のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、ＨＶＲ－Ｌ２及びＨＶＲ－Ｌ３を含む。上の実施形態の別の態様において、多重特異性抗体の抗ＴｆＲアームは、それぞれ配列番号５０、５１及び１５５のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、ＨＶＲ－Ｌ２及びＨＶＲ－Ｌ３を含む。

【００２３】

上の実施形態のいくつかの態様において、多重特異性抗体の抗ＴｆＲアームは、それぞれ配列番号２９、３０及び３１のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、ＨＶＲ－Ｌ２及びＨＶＲ－Ｌ３、ならびにそれぞれ配列番号３２、３３及び３４のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、ＨＶＲ－Ｈ２及びＨＶＲ－Ｈ３を含む。上の実施形態の別の態様において、多重特異性抗体の抗ＴｆＲアームは、それぞれ配列番号３５、３０及び３６のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、ＨＶＲ－Ｌ２及びＨＶＲ－Ｌ３、ならびにそれぞれ配列番号３７、３８及び３９のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、ＨＶＲ－Ｈ２及びＨＶＲ－Ｈ３を含む。上の実施形態の別の態様において、多重特異性抗体の抗ＴｆＲアームは、それぞれ配列番号３５、３０及び３６のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、ＨＶＲ－Ｌ２及びＨＶＲ－Ｌ３、ならびにそれぞれ配列番号３２、４０及び３４のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、ＨＶＲ－Ｈ２及びＨＶＲ－Ｈ３を含む。上の実施形態の別の態様において、多重特異性抗体の抗ＴｆＲアームは、それぞれ配列番号４１、３０及び４２のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、ＨＶＲ－Ｌ２及びＨＶＲ－Ｌ３、ならびにそれぞれ配列番号３７、４３及び４４のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、ＨＶＲ－Ｈ２及びＨＶＲ－Ｈ３を含む。上の実施形態の別の態様において、多重特異性抗体の抗ＴｆＲアームは、それぞれ配列番号２９、３０及び３１のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、ＨＶＲ－Ｌ２及びＨＶＲ－Ｌ３、ならびにそれぞれ配列番号３２、３３及び３４のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、ＨＶＲ－Ｈ２及びＨＶＲ－Ｈ３を含む。上の実施形態の別の態様において、多重特異性抗体の抗ＴｆＲアームは、それぞれ配列番号４５、３０及び４６のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、ＨＶＲ－Ｌ２及びＨＶＲ－Ｌ３、ならびにそれぞれ配列番号４７、４８及び４９のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、ＨＶＲ－Ｈ２及びＨＶＲ－Ｈ３を含む。上の実施形態の別の態様において、多重特異性抗体の抗ＴｆＲアームは、それぞれ配列番号５０、５１及び５２のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、ＨＶＲ－Ｌ２及びＨＶＲ－Ｌ３、ならびにそれぞれ配列番号５３、５４及び５５のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、ＨＶＲ－Ｈ２及びＨＶＲ－Ｈ３を含む。上の実施形態の別の態様において、多重特異性抗体の抗ＴｆＲアームは、それぞれ配列番号５６、５７及び５２のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、ＨＶＲ－Ｌ２及びＨＶＲ－Ｌ３、ならびにそれぞれ配列番号５３、５８及び５９のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、ＨＶＲ－Ｈ２及びＨＶＲ－Ｈ３を含む。上の実施形態の別の態様において、多重特異性抗体の抗ＴｆＲアームは、それぞれ配列番号６０、６１及び６２のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、ＨＶＲ－Ｌ２及びＨＶＲ－Ｌ３、ならびにそれぞれ配列番号５３、６３及び５５のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、ＨＶＲ－Ｈ２及びＨＶＲ－Ｈ３を含む。上の実施形態の別の態様において、多重特異性抗体の抗ＴｆＲアームは、それぞれ配列番号６０、６４及び５２のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、ＨＶＲ－Ｌ２及びＨＶＲ－Ｌ３、ならびにそれぞれ配列番号５３、６５及び５５のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、ＨＶＲ－Ｈ２及びＨＶＲ－Ｈ３を含む。上の実施形態の別の態様において、多重特異性抗体の抗ＴｆＲアームは、それぞれ配列番号６６、６７及び６８のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、ＨＶＲ－Ｌ２及びＨＶＲ－Ｌ３、ならびにそれぞれ配列番号５３、６９及び７０のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、ＨＶＲ－Ｈ２及びＨＶＲ－Ｈ３を含む。上の実施形態の別の態様において、多重特異性抗体の抗ＴｆＲアームは、それぞれ配列番号７１、７２及び７３のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、ＨＶＲ－Ｌ２及びＨＶＲ

－Ｌ３、ならびにそれぞれ配列番号７４、７５及び７６のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、ＨＶＲ－Ｈ２及びＨＶＲ－Ｈ３を含む。上の実施形態の別の態様において、多重特異性抗体の抗ＴｆＲアームは、それぞれ配列番号７７、７８及び７９のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、ＨＶＲ－Ｌ２及びＨＶＲ－Ｌ３、ならびにそれぞれ配列番号８０、８１及び８２のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、ＨＶＲ－Ｈ２及びＨＶＲ－Ｈ３を含む。上の実施形態の別の態様において、多重特異性抗体の抗ＴｆＲアームは、それぞれ配列番号７７、７８及び７９のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、ＨＶＲ－Ｌ２及びＨＶＲ－Ｌ３、ならびにそれぞれ配列番号８０、８３及び８４のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、ＨＶＲ－Ｈ２及びＨＶＲ－Ｈ３を含む。上の実施形態の別の態様において、多重特異性抗体の抗ＴｆＲアームは、それぞれ配列番号８５、８６及び８７のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、ＨＶＲ－Ｌ２及びＨＶＲ－Ｌ３、ならびにそれぞれ配列番号８８、８９及び９０のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、ＨＶＲ－Ｈ２及びＨＶＲ－Ｈ３を含む。上の実施形態の別の態様において、多重特異性抗体の抗ＴｆＲアームは、それぞれ配列番号９１、９２及び９３のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、ＨＶＲ－Ｌ２及びＨＶＲ－Ｌ３、ならびにそれぞれ配列番号９４、９５及び９６のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、ＨＶＲ－Ｈ２及びＨＶＲ－Ｈ３を含む。上の実施形態の別の態様において、多重特異性抗体の抗ＴｆＲアームは、それぞれ配列番号９７、９８及び９９のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、ＨＶＲ－Ｌ２及びＨＶＲ－Ｌ３、ならびにそれぞれ配列番号１００、１０１及び１０２のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、ＨＶＲ－Ｈ２及びＨＶＲ－Ｈ３を含む。上の実施形態の別の態様において、多重特異性抗体の抗ＴｆＲアームは、それぞれ配列番号２９、３０及び１２７のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、ＨＶＲ－Ｌ２及びＨＶＲ－Ｌ３、ならびにそれぞれ配列番号３２、３３及び３４のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、ＨＶＲ－Ｈ２及びＨＶＲ－Ｈ３を含む。上の実施形態の別の態様において、多重特異性抗体の抗ＴｆＲアームは、それぞれ配列番号５０、５１及び５２のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、ＨＶＲ－Ｌ２及びＨＶＲ－Ｌ３、ならびにそれぞれ配列番号５３、１５６及び５５のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、ＨＶＲ－Ｈ２及びＨＶＲ－Ｈ３を含む。上の実施形態の別の態様において、多重特異性抗体の抗ＴｆＲアームは、それぞれ配列番号５０、５１及び５２のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、ＨＶＲ－Ｌ２及びＨＶＲ－Ｌ３、ならびにそれぞれ配列番号５３、１５７及び５５のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、ＨＶＲ－Ｈ２及びＨＶＲ－Ｈ３を含む。上の実施形態の別の態様において、多重特異性抗体の抗ＴｆＲアームは、それぞれ配列番号５０、５１及び１５５のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、ＨＶＲ－Ｌ２及びＨＶＲ－Ｌ３、ならびにそれぞれ配列番号５３、５４及び５５のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、ＨＶＲ－Ｈ２及びＨＶＲ－Ｈ３を含む。

【００２４】

上の実施形態のいくつかの態様において、多重特異性抗体の抗ＴｆＲアームは、配列番号４７，５３または１００のＨＶＲ－Ｈ１配列、配列番号４８，６９，１０１，１５６または１５７のＨＶＲ－Ｈ２配列、配列番号４９，７６または１０２のＨＶＲ－Ｈ３配列、配列番号４５，６６または９７のＨＶＲ－Ｌ１配列、配列番号３０，６７または９８のＨＶＲ－Ｌ２配列及び配列番号４６，６８または１０２のＨＶＲ－Ｌ３配列からなる配列群から選択される少なくとも１つのＨＶＲ－Ｈ１、ＨＶＲ－Ｈ２、ＨＶＲ－Ｈ３、ＨＶＲ－Ｌ１、ＨＶＲ－Ｌ２またはＨＶＲ－Ｌ３　を含む。

【００２５】

上の実施形態のいくつかの態様において、多重特異性抗体の抗ＴｆＲアームは、（ａ）配列番号７、８、９、１０、１５、１６、１７、１８、２０、２５、２６、２７、２８、１０８、１１４、１２０、１２６、４０３または４０４のアミノ酸配列と少なくとも９５％の配列同一性を有するＶＨ配列、（ｂ）配列番号４、５、６、１１、１２、１３、１４、１９、２１、２２、２３、２４、１０５、１１１、１１７、１２３、４０１、または４０２のアミノ酸配列と少なくとも９５％の配列同一性を有するＶＬ配列、または（ｃ）（ａ）にあるようなＶＨ配列及び（ｂ）にあるようなＶＬ配列を含む。１つのかかる態様において、多重特異性抗体の抗ＴｆＲアームは配列番号４の　ＶＬ　配列及び配列番号７の

ＶＨ配列を含む。別のかかる態様において、多重特異性抗体の抗ＴｆＲアームは配列番号５の　ＶＬ　配列及び配列番号８のＶＨ配列を含む。別のかかる態様において、多重特異性抗体の抗ＴｆＲアームは配列番号５の　ＶＬ　配列及び配列番号９のＶＨ配列を含む。別のかかる態様において、多重特異性抗体の抗ＴｆＲアームは配列番号６の　ＶＬ　配列及び配列番号１０のＶＨ配列を含む。別のかかる態様において、多重特異性抗体の抗ＴｆＲアームは配列番号１１の　ＶＬ　配列及び配列番号１５のＶＨ配列を含む。別のかかる態様において、多重特異性抗体の抗ＴｆＲアームは配列番号１２の　ＶＬ　配列及び配列番号１６のＶＨ配列を含む。別のかかる態様において、多重特異性抗体の抗ＴｆＲアームは配列番号１３の　ＶＬ　配列及び配列番号１７のＶＨ配列を含む。別のかかる態様において、多重特異性抗体の抗ＴｆＲアームは配列番号１４の　ＶＬ　配列及び配列番号１８のＶＨ配列を含む。別のかかる態様において、多重特異性抗体の抗ＴｆＲアームは配列番号１９の　ＶＬ　配列及び配列番号２０のＶＨ配列を含む。別のかかる態様において、多重特異性抗体の抗ＴｆＲアームは配列番号２１のＶＬ配列及び配列番号２５のＶＨ配列を含む。別のかかる態様において、多重特異性抗体の抗ＴｆＲアームは配列番号２２のＶＬ配列及び配列番号２６のＶＨ配列を含む。別のかかる態様において、多重特異性抗体の抗ＴｆＲアームは配列番号２３のＶＬ配列及び配列番号２７のＶＨ配列を含む。別のかかる態様において、多重特異性抗体の抗ＴｆＲアームは配列番号２４のＶＬ配列及び配列番号２８のＶＨ配列を含む。別のかかる態様において、多重特異性抗体の抗ＴｆＲアームは配列番号１０５のＶＬ配列及び配列番号１０８のＶＨ配列を含む。別のかかる態様において、多重特異性抗体の抗ＴｆＲアームは配列番号４０１のＶＬ配列及び配列番号１０８のＶＨ配列を含む。別のかかる態様において、多重特異性抗体の抗ＴｆＲアームは配列番号１１１のＶＬ配列及び配列番号１１４のＶＨ配列を含む。別のかかる態様において、多重特異性抗体の抗ＴｆＲアームは配列番号１１７のＶＬ配列及び配列番号１２０のＶＨ配列を含む。別のかかる態様において、多重特異性抗体の抗ＴｆＲアームは配列番号１２３のＶＬ配列及び配列番号１２６のＶＨ配列を含む。別のかかる態様において、多重特異性抗体の抗ＴｆＲアームは配列番号１０５のＶＬ配列及び配列番号４０３のＶＨ配列を含む。別のかかる態様において、多重特異性抗体の抗ＴｆＲアームは配列番号４０１のＶＬ配列及び配列番号４０３のＶＨ配列を含む。別のかかる態様において、抗体は配列番号１０５のＶＬ配列及び配列番号４０４のＶＨ配列を含む。別のかかる態様において、抗体は配列番号４０１のＶＬ配列及び配列番号４０４のＶＨ配列を含む。別のかかる態様において、抗体は配列番号４０２のＶＬ配列及び配列番号１０８のＶＨ配列を含む。別のかかる態様において、多重特異性抗体の抗ＴｆＲアームは、（ａ）配列番号１０８、（ｂ）配列番号１１４、（ｃ）配列番号１２０、（ｄ）配列番号１２６、（ｅ）配列番号４０３、または（ｆ）配列番号４０４のＶＨ配列を含む。別のかかる態様において、多重特異性抗体の抗ＴｆＲアームは、（ａ）配列番号１０５、（ｂ）配列番号１１１、（ｃ）配列番号１１７、（ｄ）配列番号１２３、（ｅ）配列番号４０１、または（ｆ）配列番号４０２のＶＬ配列を含む。

【００２６】

上の実施形態のいくつかの態様において、多重特異性抗体の抗ＴｆＲアームは、抗体７Ａ４、８Ａ２、１５Ｄ２、１０Ｄ１１、７Ｂ１０、１５Ｇ１１、１６Ｇ５、１３Ｃ３、１６Ｇ４、１６Ｆ６、７Ｇ７、４Ｃ２、１Ｂ１２、及び１３Ｄ４からなる群から選択される。１つのかかる態様において、多重特異性抗体の抗ＴｆＲアームは７Ａ４である。別のかかる態様において、多重特異性抗体の抗ＴｆＲアームは８Ａ２である。別のかかる態様において、多重特異性抗体の抗ＴｆＲアームは１５Ｄ２である。別のかかる態様において、多重特異性抗体の抗ＴｆＲアームは１０Ｄ１１である。別のかかる態様において、多重特異性抗体の抗ＴｆＲアームは７Ｂ１０である。別のかかる態様において、多重特異性抗体の抗ＴｆＲアームは１５Ｇ１１である。別のかかる態様において、多重特異性抗体の抗ＴｆＲアームは１６Ｇ５である。別のかかる態様において、多重特異性抗体の抗ＴｆＲアームは１３Ｃ３である。別のかかる態様において、多重特異性抗体の抗ＴｆＲアームは１６Ｇ４である。別のかかる態様において、多重特異性抗体の抗ＴｆＲアームは１６Ｆ６であ

る。別のかかる態様において、多重特異性抗体の抗ＴｆＲアームは７Ｇ７である。別のかかる態様において、多重特異性抗体の抗ＴｆＲアームは４Ｃ２である。別のかかる態様において、多重特異性抗体の抗ＴｆＲアームは１Ｂ１２である。別のかかる態様において、多重特異性抗体の抗ＴｆＲアームは１３Ｄ４である。

【００２７】

上記の任意のいくつかの態様において、抗体は更に親和性成熟される。１つのかかる態様において、多重特異性抗体の抗ＴｆＲアームは、１５Ｇ１１．ｖ１、１５Ｇ１１．ｖ２、１５Ｇ１１．ｖ３、１５Ｇ１１．ｖ４、１５Ｇ１１．ｖ５、７Ａ４．ｖ１、７Ａ４．ｖ２、７Ａ４．ｖ３、７Ａ４．ｖ４、７Ａ４．ｖ５、７Ａ４．ｖ６、７Ａ４．ｖ７、７Ａ４．ｖ８、７Ａ４．ｖ９、７Ａ４．ｖ１０、７Ａ４．ｖ１１、７Ａ４．ｖ１２、７Ａ４．ｖ１３、７Ａ４．ｖ１４、７Ａ４．ｖ１５、７Ｇ７．ｖ１、１６Ｆ６．ｖ１、１６Ｆ６．ｖ２、１６Ｆ６．ｖ３、１６Ｆ６．ｖ４、１５Ｇ１１．Ｎ５２Ａ、１５Ｇ１１．Ｔ５３Ａ及び１５Ｇ１１．Ｗ９２Ａからなる群から選択される。１つのかかる態様において、多重特異性抗体の抗ＴｆＲアームは１５Ｇ１１．ｖ１である。別のかかる態様において、多重特異性抗体の抗ＴｆＲアームは１５Ｇ１１．ｖ２である。別のかかる態様において、多重特異性抗体の抗ＴｆＲアームは１５Ｇ１１．ｖ３である。別のかかる態様において、多重特異性抗体の抗ＴｆＲアームは１５Ｇ１１．ｖ４である。別のかかる態様において、多重特異性抗体の抗ＴｆＲアームは１５Ｇ１１．ｖ５である。別のかかる態様において、多重特異性抗体の抗ＴｆＲアームは７Ａ４．ｖ１である。別のかかる態様において、多重特異性抗体の抗ＴｆＲアームは７Ａ４．ｖ２である。別のかかる態様において、多重特異性抗体の抗ＴｆＲアームは７Ａ４．ｖ３である。別のかかる態様において、多重特異性抗体の抗ＴｆＲアームは７Ａ４．ｖ４である。別のかかる態様において、多重特異性抗体の抗ＴｆＲアームは７Ａ４．ｖ５である。別のかかる態様において、多重特異性抗体の抗ＴｆＲアームは７Ａ４．ｖ６である。別のかかる態様において、多重特異性抗体の抗ＴｆＲアームは７Ａ４．ｖ７である。別のかかる態様において、多重特異性抗体の抗ＴｆＲアームは７Ａ４．ｖ８である。別のかかる態様において、多重特異性抗体の抗ＴｆＲアームは７Ａ４．ｖ９である。別のかかる態様において、多重特異性抗体の抗ＴｆＲアームは７Ａ４．ｖ１０である。別のかかる態様において、多重特異性抗体の抗ＴｆＲアームは７Ａ４．ｖ１１である。別のかかる態様において、多重特異性抗体の抗ＴｆＲアームは７Ａ４．ｖ１２である。別のかかる態様において、多重特異性抗体の抗ＴｆＲアームは７Ａ４．ｖ１３である。別のかかる態様において、多重特異性抗体の抗ＴｆＲアームは７Ａ４．ｖ１４である。別のかかる態様において、多重特異性抗体の抗ＴｆＲアームは７Ａ４．ｖ１５である。別のかかる態様において、多重特異性抗体の抗ＴｆＲアームは７Ｇ７．ｖ１である。別のかかる態様において、多重特異性抗体の抗ＴｆＲアームは１６Ｆ６．ｖ１である。別のかかる態様において、多重特異性抗体の抗ＴｆＲアームは１６Ｆ６．ｖ２である。別のかかる態様において、多重特異性抗体の抗ＴｆＲアームは１６Ｆ６．ｖ３である。別のかかる態様において、多重特異性抗体の抗ＴｆＲアームは１６Ｆ６．ｖ４である。別のかかる態様において、多重特異性抗体の抗ＴｆＲアームは１５Ｇ１１．Ｎ５２Ａである。別のかかる態様において、多重特異性抗体の抗ＴｆＲアームは１５Ｇ１１．Ｔ５３Ａである。別のかかる態様において、抗体は１５Ｇ１１．Ｗ９２Ａである。

【００２８】

上の実施形態のいくつかの態様において、抗体は、ＶＨまたはＶＬの１つ以上のアミノ酸位置で、図４Ｅ－１及び４Ｅ－２のその位置で特定されたアミノ酸に修飾される。上の実施形態の別の態様において、多重特異性抗体の抗ＴｆＲアームは、図３及び４ならびに図４Ｅ－１及び４Ｅ－２の任意な１つのクローンについて明記した配列または１つ以上の配列に対応する配列または１つ以上のＨＶＲ配列を含む。上の実施形態の別の態様において、多重特異性抗体の抗ＴｆＲアームは、図３及び４ならびに図４Ｅ－１及び４Ｅ－２の任意な１つのクローンについて明記した配列または１つ以上の配列に対応するＶＨ配列またはＶＬ配列を含む。上の実施形態の別の態様において、多重特異性抗体の抗ＴｆＲアームは、図３及び４ならびに図４Ｅ－１及び４Ｅ－２の任意な１つのクローンについて明記

した配列または１つ以上の配列に対応する配列または１つ以上のＨＶＲ配列を含む。
【００２９】
いくつかの実施形態において、ヒトトランスフェリン受容体（ＴｆＲ）及び霊長類に結合する第１抗原結合部位を含み、抗体がトランスフェリンのＴｆＲへの結合を阻害しない抗体前半とＢＡＣＥ１に結合する第２抗原結合部位であって、第２抗原結合部位が
ａ）配列番号１５１～１５６から選択されたＨＶＲ－Ｈ１配列、配列番号１７２～１７５から選択されたＨＶＲ－Ｈ２配列、配列番号２００及び２０１から選択されたＨＶＲ－Ｈ３配列、配列番号２１２及び２１３から選択されたＨＶＲ－Ｌ１配列、配列番号２１９及び２２０から選択されたＨＶＲ－Ｌ２配列、配列番号２２５～２２８及び２４８から選択されたＨＶＲ－Ｌ３配列、あるいは
ｂ）配列番号１５７～１７１、３７６，３８１及び３８２から選択されたＨＶＲ－Ｈ１配列、配列番号１７６～１９９、３７７、３８３及び４０５から選択されたＨＶＲ－Ｈ２配列、配列番号２０２～２１１、３７８、３７９、３８４及び３８５から選択されたＨＶＲ－Ｈ３配列、配列番号２１４～２１８から選択されたＨＶＲ－Ｌ１配列、配列番号２１９～２２４及び３７５から選択されたＨＶＲ－Ｌ２配列、配列番号２２９～２４７から選択されたＨＶＲ－Ｌ３配列を含む抗体後半を備えた多重特異性抗体ＴｆＲを提供する。
【００３０】
いくつかの実施形態において、ヒトＴｆＲ及び霊長類ＴｆＲに結合する第１抗原結合部位を含む抗体前半であって、該抗体がトランスフェリンのＴｆＲへの結合を阻害しないで、網状赤血球への抗体の影響が低減または除去されるように抗体の１つ以上の特性が改変され、及び／または抗体で治療される対象または哺乳類の急性臨床症状の重症度または存在が低減する前記の抗体前半と、ＢＡＣＥ１に結合する第２抗原結合部位を含み、第２抗原結合部位が
ａ）配列番号１５１～１５６から選択されたＨＶＲ－Ｈ１配列、配列番号１７２～１７５から選択されたＨＶＲ－Ｈ２配列、配列番号２００及び２０１から選択されたＨＶＲ－Ｈ３配列、配列番号２１２及び２１３から選択されたＨＶＲ－Ｌ１配列、配列番号２１９及び２２０から選択されたＨＶＲ－Ｌ２配列、配列番号２２５～２２８及び２４８から選択されたＨＶＲ－Ｌ３配列、あるいは
ｂ）配列番号１５７～１７１、３７６，３８１及び３８２から選択されたＨＶＲ－Ｈ１配列、配列番号１７６～１９９、３７７、３８３及び４０５から選択されたＨＶＲ－Ｈ２配列、配列番号２０２～２１１、３７８、３７９、３８４及び３８５から選択されたＨＶＲ－Ｈ３配列、配列番号２１４～２１８から選択されたＨＶＲ－Ｌ１配列、配列番号２１９～２２４及び３７５から選択されたＨＶＲ－Ｌ２配列、配列番号２２９～２４７から選択されたＨＶＲ－Ｌ３配列を含む抗体後半を備えた多重特異性抗体ＴｆＲを提供する。
【００３１】
いくつかの実施形態において、第２抗原結合部位が表１の抗体から選別した抗体のＨＶＲ－Ｈ１、ＨＶＲ－Ｈ２、ＨＶＲ－Ｈ３、ＨＶＲ－Ｌ１、ＨＶＲ－Ｌ２及びＨＶＲ－Ｌ３を含む。いくつかの実施形態において、表１の抗体が抗体６２６６である。いくつかの実施形態において、抗体が配列番号１５のＨＶＲ－Ｈ１、配列番号２９のＨＶＲ－Ｈ２配列、配列番号５２のＨＶＲ－Ｈ３配列、配列番号６５のＨＶＲ－Ｌ１配列、配列番号７１のＨＶＲ－Ｌ２配列、及び配列番号８０のＨＶＲ－Ｌ３配列を含む。
【００３２】
いくつかの実施形態において、第２結合部位は、
ａ）配列番号２４９～２９７、３５２～３５８及び３６７～３７４から選択したアミノ酸配列と少なくとも９０％配列同一性を有する重鎖可変領域配列、または
ａ）配列番号２９８～３２８、３４５～３５１及び３５９～３６６から選択したアミノ酸配列と少なくとも９０％配列同一性を有する軽鎖可変領域配列、または
ｃ）（ａ）にあるような重鎖可変領域配列及び（ｂ）にあるような軽鎖可変ドメイン配列を含む。
いくつかの実施形態において、第２結合部位は、

ａ）配列番号２４９～２９７、３５２～３５８及び３６７～３７４から選択した重鎖可変領域配列、または
ａ）配列番号２９８～３２８、３４５～３５１及び３５９～３６６から選択した軽鎖可変領域配列、または
ｃ）（ａ）にあるような重鎖可変領域配列及び（ｂ）にあるような軽鎖可変ドメイン配列を含む。

【００３３】

いくつかの実施形態において、第２結合部位は、
ａ）配列番号２８８、３５２～３５８及び３６７～３７４から選択したアミノ酸配列と少なくとも９０％配列同一性を有する重鎖可変領域配列、または
ｂ）配列番号３０６、３４５～３５１及び３５９～３６６から選択したアミノ酸配列と少なくとも９０％配列同一性を有する軽鎖可変ドメイン配列、または
ｃ）（ａ）にあるような重鎖可変領域配列及び（ｂ）にあるような軽鎖可変ドメイン配列を含む。
いくつかの実施形態において、第２結合部位は、
ａ）配列番号２８８、３５２～３５８及び３６７～３７４から選択した配列を有する重鎖可変領域配列、または
ｂ）配列番号３０６、３４５～３５１及び３５９～３６６から選択した配列を有する軽鎖可変領域配列、または
ｃ）（ａ）にあるような重鎖可変領域配列及び（ｂ）にあるような軽鎖可変ドメイン配列、または
ｄ）６２６６及び６２６６変異体１－１５から選択した抗体の重鎖可変ドメイン配列及び軽鎖可変ドメイン配列を含む。

【００３４】

いくつかの実施形態において、単離した抗体はＢＡＣＥ１の活性を修飾する。いくつかの実施形態において、抗体はＢＡＣＥ１の活性を阻害する。いくつかの実施形態において、ＢＡＣＥ１活性は、均一時間分解蛍光（ＨＴＲＦ）アッセイを使用して測定する。いくつかの実施形態において、ＢＡＣＥ１活性は、ＢＡＣＥ１基質を発現する細胞株を使用して測定する。いくつかの実施形態において、ＢＡＣＥ１基質はアミロイド前駆体タンパク質（ＡＰＰ）である。いくつかの実施形態において、ＢＡＣＥ１活性は、多重特異性抗体が投与された動物の組織で測定する。いくつかの実施形態において、組織は脳組織である。いくつかの実施形態において、動物はマウス、ラット、ウサギ、イヌ、サル及び非ヒト霊長類から選択される。

【００３５】

いくつかの実施形態において、抗体はＢＡＣＥ１活性のアロステリック阻害剤である。いくつかの実施形態において、表面プラズモン共鳴（ＳＰＲ）で測定したとき、抗体が０．１～１０ｎＭ、０．１～８ｎＭ、０．１～７ｎＭ、０．１～５ｎＭ、０．５～５ｎＭ、０．１～３ｎＭ　または０．５～３ｎＭの親和性（ＫＤ）でＢＡＣＥ１に結合する。いくつかの実施形態において、抗体は、例えば解離皮質ニューロン培養アッセイを使用して測定したとき、６０％より大きい、７０％より大きい、７５％より大きい、または８０％より大きい最大のＢＡＣＥ１活性阻害を達成する。

【００３６】

上の実施形態のいくつかの態様において、多重特異性抗体の１つ以上の特性が抗体Ｆｃ領域のエフェクター機能、抗体の補体活性機能及びＴｆＲ及び／またはＢＡＣＥ１に対する抗体の親和性から選択される。１つのかかる態様において、特性は抗体Ｆｃ領域のエフェクター機能である。別のかかる態様において、特性は抗体の補体活性機能である。別のかかる態様において、特性はＴｆＲ及び／またはＢＡＣＥ１の親和性である。１つのかかる態様において、エフェクター機能または補体活性機能が同じアイソタイプの野生型抗体と比較して低減または除去されている。いくつかの態様において、エフェクター機能は、抗体のグリコシル化の減少、自然にエフェクター機能が低減または除去されるアイソタイ

プへの抗体アイソタイプの修飾、及びＦｃ領域の修飾から選択した方法によって低減または除去される。

【００３７】

１つのかかる態様において、エフェクター機能は、抗体のグリコシル化の減少によって低減または除去される。１つのかかる態様において、抗体のグリコシル化は、野生型グリコシル化を許容にしない環境での抗体産生、抗体上に既に存在する炭水化物基の除去、及び野生型グリコシル化が起こらないような抗体の修飾から選択された方法によって低減される。１つのかかる態様において、抗体のグリコシル化は、例えば非哺乳類細胞産生系または抗体が合成的に製造される場合での産生など、野生型グリコシル化を許容しない環境での抗体の産生によって低減される。１つのかかる態様において、抗体は非哺乳類細胞産生系で生成される。別のかかる態様において、抗体は合成的に生成される。別のかかる態様において、抗体のグリコシル化は、例えば野生型グリコシル化が起きないような抗体の修飾であって、例えば抗体のＦｃ領域が位置２９７で変異（例えば当該位置の野生型アスパラギン残基が当該位置でのグリコシル化を妨げる別のアミノ酸で置換される）を含むことによって低減される。

【００３８】

別のかかる態様において、エフェクター機能はＦｃ領域の少なくとも１つの修飾によって低減または除去される。１つのかかる態様において、エフェクター機能または補体活性機能は、Ｆｃ領域の全部または一部の欠失によって、あるいは例えばエフェクター機能または補体活性機能に適格なＦｃ領域または非Ｆｃ領域を含まないように抗体を操作することによって低減または除去される。別のかかる態様において、Ｆｃ領域の少なくとも１つの修飾は、以下の位置、すなわち２３８、２３９、２４８、２４９、２５２、２５４、２６５、２６８、２６９、２７０、２７２、２７８、２８９、２９２、２９３、２９４、２９５、２９６、２９７、２９８、３０１、３０３、３２２、３２４、３２７、３２９、３３３、３３５、３３８、３４０、３７３、３７６、３８２、３８８、３８９、４１４、４１６、４１９、４３４、４３５、４３７、４３８及び４３９から選択された１つ以上のＦｃ受容体への結合を損なうＦｃ領域の点突然変異、以下の位置、すなわち２７０、３２２、３２９及び３２１から選択されたＣ１ｑへの結合を損なうＦｃ領域の点突然変異、Ｆｃ領域の一部または全部を除去すること、ならびにＣＨ１ドメインの位置１３２の点突然変異から選択される。１つのかかる態様において、修飾は、以下の位置、２７０，３２２，３２９及び３２１から選択されたＣ１ｑへの結合を損なうＦｃ領域の点突然変異である。別のかかる態様において、修飾はＦｃ領域の一部または全部の除去である。別のかかる態様において、補体開始機能は、Ｆｃ領域の全部または一部の除去によって、または補体経路に係わるＦｃ領域を含まないように抗体を操作することによって低減または除去される。１つのかかる態様において、抗体は、Ｆａｂ　または１本鎖抗体から選択される。別のかかる態様において、抗体の非Ｆｃ領域は、抗体によって補体経路の活性を低減または除去するように修飾される。１つのかかる態様において、修飾はＣ３への結合を損なうＣＨ１領域の点突然変異である。１つのかかる態様において、点突然変異は位置１３２にある（例えば、Ｖｉｄａｒｔｅ　ｅｔ　ａｌ．，（２００１）Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．２７６（４１）：　３８２１７－３８２２３を参照）。

【００３９】

いくつかの態様において、抗体の半減期はＦｃＲｎ結合領域の修飾によって増加する。いくつかの態様において、修飾は以下の位置、２５１　２５６、２８５、２９０、３０８、３１４、３８５、３８９、４２８、４３４、４３６、２３８、２６５、２７２、２８６、３０３、３０５、３０７、３１１、３１２、３１７、３４０、３５６、３６０、３６２、３７６、３７８、３８０、３８２、４１３、４２４、または４３４から選択されたアミノ酸の置換である。いくつかの態様において、修飾は、以下、Ｍ２５２Ｙ、Ｓ２５４Ｔ、Ｔ２５６Ｅ、Ｎ４３４Ａ及びＹ４３６Ｉから選択された置換である。

いくつかの態様において、抗体は、網状赤血球レベルまたは急性臨床症状への影響を緩和する、あるいは当該影響の減少に寄与する更なる化合物と併用される。１つのかかる態様

において、更なる化合物は網状赤血球を抗体関連の枯渇から保護し、あるいは網状赤血球の成長、発達または再建を支持する。別のかかる態様において、更なる化合物はエリスロポエチン（ＥＰＯ）、鉄分補充剤、ビタミンＣ、葉酸及びビタミンＢ１２から選択され、または赤血球若しくは網状赤血球である。

【００４０】

上の実施形態のいくつかの態様において、ＴｆＲに対する低下した親和性を有さない同アイソタイプの野生型抗体と比較して測定すると、ＴｆＲに対する本抗体の親和性が減少する。１つのかかる態様において、抗体は約１ｐＭ～約１００μＭのＫＤまたはＩＣ５０を有する。別のかかる態様において、抗体の用量及び／または投与頻度を調節し、赤血球が曝露される抗体の濃度を低減する。

【００４１】

上の実施形態のいくつかの態様において、抗体は治療化合物と結合される。上の実施形態のいくつかの態様において、抗体は造影剤または標識と結合される。１つのかかる態様において、抗体は多重特異性抗体であり、治療化合物は任意選択でＴｆＲに結合する第１抗原結合部位とＢＡＣＥ１に結合する第２抗原結合部位を含む多重特異性抗体の一部を形成する。

【００４２】

いくつかの実施形態において、多重特異性抗体はＩｇＧ抗体である。いくつかの実施形態において、抗体はＩｇＧ１またはＩｇＧ４抗体である。いくつかの実施形態において、抗体はＩｇＧ１抗体である。いくつかの実施形態において、抗体は、第１重鎖定常領域と第２重鎖定常領域を含み、第１重鎖定常領域は突起（ノブ）変異を含み、第２重鎖定常領域は空洞（ホール）変異を含む。いくつかの実施形態において、第１重鎖定常領域は第１抗原結合部位と融合される。いくつかの実施形態において、第２重鎖定常領域は第２抗原結合部位と融合される。いくつかの実施形態において、第１重鎖定常領域は第２抗原結合部位と融合される。いくつかの実施形態において、第２重鎖定常領域は第１抗原結合部位と融合される。いくつかの実施形態において、抗体はＩｇＧ１抗体であり、ノブ変異はＴ３６６Ｗ変異を含む。いくつかの実施形態において、抗体はＩｇＧ１抗体であり、ホール変異はＴ３６６Ｓ、Ｌ３６８Ａ及びＹ４０７Ｖから選択された少なくとも１つ、または少なくとも２つ、または３つの変異を含む。いくつかの実施形態において、抗体はＩｇＧ４抗体であり、ノブ変異はＴ３６６Ｗ変異を含む。いくつかの実施形態において、抗体はＩｇＧ４抗体であり、ホール変異はＴ３６６Ｓ、Ｌ３６８Ａ及びＹ４０７Ｖから選択された少なくとも１つ、または少なくとも２つ、または３つの変異を含む。いくつかの実施形態において、ヒトトランスフェリン受容体（ＴｆＲ）及び霊長類に結合する第１抗原結合部位を含み、抗体がトランスフェリンのＴｆＲへの結合を阻害しない抗体前半とＢＡＣＥ１に結合する第２抗原結合部位を含む抗体後半を含み、

・　第１重鎖および第１軽鎖は、配列番号３２９及び３３０、配列番号３３３及び３３４、配列番号３３７及び３３８、配列番号３４１及び３４２、配列番号３９４及び３４２から選択され、

・　第２重鎖及び第２軽鎖は、配列番号３３１及び３３２、配列番号３３５及び３３６、配列番号３３９及び３４０、及び配列番号３４３及び３４４から選択される多重特異性抗体を提供する。

【００４３】

いくつかの実施形態において、抗体は、

・　第１重鎖及び第１軽鎖が配列番号３３３及び３３４、配列番号３４１及び３４２、及び配列番号３９４及び３４２から選択され、

・　第２重鎖及び第２軽鎖が配列番号３３５及び３３６、及び配列番号３４３及び３４４から選択されることを備える。

【００４４】

いくつかの実施形態において、多重特異性抗体は、ヒトトランスフェリン受容体（ＴｆＲ）及び霊長類ＴｆＲに結合する第１抗原結合部位を含む抗体前半とＢＡＣＥ１に結合す

る第２抗原結合部位を含む抗体後半を含み、
・　抗体前半は、配列番号３９４の配列を有する第１重鎖と配列番号３４２の配列を有する第１軽鎖を含み、抗体後半は、配列番号３４３の配列を有する第２重鎖と配列番号３４４の配列を有する第２軽鎖を含む、あるいは、
・　抗体前半は、配列番号３９６の配列を有する第１重鎖可変領域と配列番号３９８の配列を有する第１軽鎖可変領域を含み、抗体後半は、配列番号３９９の配列を有する第２重鎖可変領域と配列番号４００の配列を有する第２軽鎖可変領域を含む。
【００４５】
いくつかの実施形態において、多重特異性抗体は、ヒトトランスフェリン受容体（ＴｆＲ）及び霊長類ＴｆＲに結合する第１抗原結合部位を含む抗体前半と、ＢＡＣＥ１に結合する第２抗原結合部位を含む抗体後半を含み、抗体前半は、配列番号３９５の配列を含む第１重鎖可変領域及び配列番号３９７の配列を含む第１軽鎖可変領域を含み、抗体後半は、配列番号３９９の配列を含む第２重鎖可変領域及び配列番号４００の配列を含む第２軽鎖可変領域を含む。
【００４６】
いくつかの実施形態において、本発明は、任意の前記抗体をコードする単離した核酸を提供する。別の態様において、本発明はかかる核酸を含む宿主細胞を提供する。別の態様において、本発明は、抗体が産生されるように宿主細胞を培養することを含む、及び更に任意選択で宿主細胞から抗体を回収することを含む前述の任意な抗体の作製方法を提供する。
【００４７】
上の実施形態のいくつかの態様において、本発明は、任意の前述の抗体及び薬剤的に許容される担体を含む製剤を提供する。
【００４８】
上の実施形態のいくつかの態様において、本発明は、薬剤として使用するための任意の前述の抗体を提供する。上の実施形態の別の態様において、本発明は、神経障害の治療用薬剤の製造で任意の前述の抗体の用途を提供する。１つのかかる態様において、神経障害はニューロパチー障害、神経変性疾患、癌、眼性疾患障害、発作障害、リソソーム蓄積症、アミロイドーシス、ウイルス性または細菌性疾患、貧血、行動障害、及びＣＮＳ炎症からなる群から選択される。
【００４９】
上の実施形態のいくつかの態様において、本発明は、神経障害の治療に使用する任意の前述の抗体を提供する。１つのかかる態様において、神経障害はニューロパチー障害、神経変性疾患、癌、眼性疾患障害、発作障害、リソソーム蓄積症、アミロイドーシス、ウイルス性または細菌性疾患、貧血、行動障害、及びＣＮＳ炎症からなる群から選択される。
【００５０】
上の実施形態の別の態様において、本発明はＢＢＢを横断する１つ以上の化合物の輸送に使用する任意な前述の抗体を提供する。上の実施形態の別の態様において、本発明はＢＢＢを横断する１つ以上の化合物の輸送用薬剤の製造における任意の前述抗体の使用を提供する。
【００５１】
上の実施形態のいくつかの態様において、例えば抗体が、抗体と結合した化合物をＢＢＢを横断して輸送するようにＢＢＢへ任意な前述の抗体を曝露することを含む、対象におけるＢＢＢを横断して化合物を輸送する方法を提供する。別のかかる態様において、ＢＢＢはヒト対象にある。別のかかる態様において、抗体の用量及び／または投与頻度を調節し、赤血球が曝露される抗体の濃度を低下させる。別のかかる態様において、方法は更に赤血球の枯渇について対象を監視するステップを含む。別のかかる態様において、化合物に結合した抗体が治療量で投与される。１つのかかる態様において、治療量はＴｆＲ飽和である。別のかかる態様において、抗体の投与は、抗体投与の急性臨床症状を最小化するために調整された用量及び／または投与頻度において行う。

【００５２】
上の実施形態の別の態様において、例えば抗体と結合した化合物をＢＢＢを横断して輸送するようにＢＢＢへ任意な前述の抗体を曝露することを含む、化合物への対象のＣＮＳの曝露を増加させる方法を提供する。別のかかる態様において、ＢＢＢはヒト対象にある。別のかかる態様において、抗体の用量及び／または投与頻度を調節し、赤血球が曝露される抗体の濃度を低下させる。別のかかる態様において、方法は更に赤血球の枯渇について対象を監視するステップを含む。別のかかる態様において、化合物に結合した抗体が治療量で投与される。１つのかかる態様において、治療量はＴｆＲ飽和である。別のかかる態様において、抗体の投与は、抗体投与の急性臨床症状を最小化するために調整された用量及び／または投与頻度において行う。

【００５３】
上の実施形態のいくつかの態様において、例えば化合物のＣＮＳでの保持が増加するようにＢＢＢへ任意な前述の抗体を曝露することを含む、対象へ投与される化合物のＣＮＳにおける保持を増加させる方法を提供する。別のかかる態様において、ＢＢＢはヒト対象にある。別のかかる態様において、抗体の用量及び／または投与頻度を調節し、赤血球が曝露される抗体の濃度を低下させる。別のかかる態様において、方法は更に赤血球の枯渇について対象を監視するステップを含む。別のかかる態様において、化合物に結合した抗体が治療量で投与される。１つのかかる態様において、治療量はＴｆＲ飽和である。別のかかる態様において、抗体の投与は、抗体投与の急性臨床症状を最小化するために調整された用量及び／または投与頻度において行う。

【００５４】
上の実施形態のいくつかの態様において、任意の前述の抗体で哺乳類を処理することを含む、哺乳類での神経障害を治療する方法を提供する。１つのかかる態様において、神経障害はニューロパチー障害、神経変性疾患、癌、眼性疾患障害、発作障害、リソソーム蓄積症、アミロイドーシス、ウイルス性または細菌性疾患、貧血、行動障害、及びＣＮＳ炎症からなる群から選択される。別のかかる態様において、神経障害はヒト対象にある。別のかかる態様において、抗体の服用量及び／または投与頻度を調節し、赤血球が曝露される抗体の濃度を低下させる。別のかかる態様において、方法は更に赤血球の枯渇について対象を監視するステップを含む。別のかかる態様において、化合物に結合した抗体が治療量で投与される。１つのかかる態様において、治療量はＴｆＲ飽和である。別のかかる態様において、抗体の投与は、抗体投与の急性臨床症状を最小化するために調整された用量及び／または投与頻度において行う。

【００５５】
別の実施形態において、本発明は、抗体７Ａ４、８Ａ２、１５Ｄ２、１０Ｄ１１、７Ｂ１０、１５Ｇ１１、１６Ｇ５、１３Ｃ３、１６Ｇ４、１６Ｆ６、７Ｇ７、４Ｃ２、１Ｂ１２、１３Ｄ４、１５Ｇ１１．ｖ１、１５Ｇ１１．ｖ２、１５Ｇ１１．ｖ３、１５Ｇ１１．ｖ４、１５Ｇ１１．ｖ５、７Ａ４．ｖ１；７Ａ４．ｖ２、７Ａ４．ｖ３、７Ａ４．ｖ４、７Ａ４．ｖ５、７Ａ４．ｖ６、７Ａ４．ｖ７、７Ａ４．ｖ８、７Ａ４．ｖ９、７Ａ４．ｖ１０、７Ａ４．ｖ１１、７Ａ４．ｖ１２、７Ａ４．ｖ１３、７Ａ４．ｖ１４、７Ａ４．ｖ１５、７Ｇ７．ｖ１、１６Ｆ６．ｖ１、１６Ｆ６．ｖ２、１６Ｆ６．ｖ３、１６Ｆ６．ｖ４、１５Ｇ１１．Ｎ５２Ａ、１５Ｇ１１．Ｔ５３Ａ及び１５Ｇ１１Ｗ９２Ａからなる群から選択された抗体と同様なＴｆＲ上エピトープに結合する抗ＴｆＲアームを含む単離多重特異性抗体を提供する。

【００５６】
別の実施形態において、対象に投与された化合物のクリアランスを減少させる方法であって、化合物のクリアランスが減少し、対象への化合物結合抗体の投与と同時に対象の赤血球レベルの減少が低減または除去されるように、ＴｆＲに低親和性で結合する抗体に化合物が結合する、前記方法を提供する。

【００５７】
別の実施形態において、対象のＣＮＳに有効な化合物の薬物動態及び／または薬力学を

最適化する方法であって、化合物がＴｆＲに低親和性で結合する抗体に結合し、化合物に結合した後のＴｆＲに対する抗体の親和性が、ＣＮＳにおける化合物の薬物動態及び／または薬力学を最適化するＢＢＢ横断化合物複合体化抗体輸送量をもたらすように抗体を選択し、対象への化合物結合抗体投与と同時に対象の赤血球レベルの減少が低減または除去される前記方法を提供する。

【００５８】

本発明の前記方法及び組成物のいずれも本明細書に具体的に記載した本発明の別の態様及び／または更なる態様と組み合わせることができることは理解されよう。

【図面の簡単な説明】

【００５９】

【図１】ｐｄｂファイル３ＳＭ９に基づき、Ｔｆと複合体を形成したＴｆＲ二量体の３次元結晶構造を表す。ＴｆＲの非Ｔｆ結合先端領域を標識化する。

【図２Ａ】図２Ａ～２Ｂは、１μＭヒトｈｏｌｏ－Ｔｆの存在下、２９３個の細胞で過渡的に発現したヒト及びカニクイザルＴｆＲに結合するマウスハイブリドーマ親クローンのＦＡＣＳ分析を表す。特に明記しない限り、各グラフの中で灰色で塗りつぶされた図形は検出抗体からのバックグラウンドであり、中間の灰色図形はヒトＴｆＲの基底レベルを内因的に発現する２９３の細胞に結合性であり、太字の黒の図形は過渡的に発現したヒトＴｆＲへの結合性を示し、細い灰色の図形は過渡的に発現したカニクイザルＴｆＲへの結合性を表す。図２Ｃは、実施例１で記載する、ヒト／カニクイザル交差反応性抗体競合アッセイの結果を示す。１４のクローンのうちの９のクローンがファージ上に提示された抗体に結合する先端の結合を遮断ことがわかった。

【図２Ｂ】図２Ａ～２Ｂは、１μＭヒトｈｏｌｏ－Ｔｆの存在下、２９３個の細胞で過渡的に発現したヒト及びカニクイザルＴｆＲに結合するマウスハイブリドーマ親クローンのＦＡＣＳ分析を表す。特に明記しない限り、各グラフの中で灰色で塗りつぶされた図形は検出抗体からのバックグラウンドであり、中間の灰色図形はヒトＴｆＲの基底レベルを内因的に発現する２９３の細胞に結合性であり、太字の黒の図形は過渡的に発現したヒトＴｆＲへの結合性を示し、細い灰色の図形は過渡的に発現したカニクイザルＴｆＲへの結合性を表す。図２Ｃは、実施例１で記載する、ヒト／カニクイザル交差反応性抗体競合アッセイの結果を示す。１４のクローンのうちの９のクローンがファージ上に提示された抗体に結合する先端の結合を遮断ことがわかった。

【図２Ｃ】図２Ａ～２Ｂは、１μＭヒトｈｏｌｏ－Ｔｆの存在下、２９３個の細胞で過渡的に発現したヒト及びカニクイザルＴｆＲに結合するマウスハイブリドーマ親クローンのＦＡＣＳ分析を表す。特に明記しない限り、各グラフの中で灰色で塗りつぶされた図形は検出抗体からのバックグラウンドであり、中間の灰色図形はヒトＴｆＲの基底レベルを内因的に発現する２９３の細胞に結合性であり、太字の黒の図形は過渡的に発現したヒトＴｆＲへの結合性を示し、細い灰色の図形は過渡的に発現したカニクイザルＴｆＲへの結合性を表す。図２Ｃは、実施例１で記載する、ヒト／カニクイザル交差反応性抗体競合アッセイの結果を示す。１４のクローンのうちの９のクローンがファージ上に提示された抗体に結合する先端の結合を遮断ことがわかった。

【図３Ａ－１】図３Ａ－１、３Ａ－２、３Ｂ－１、３Ｂ－２、３Ｃ－１、３Ｃ－２、３Ｄ－１及び３Ｄ－２は、ＴｆＲの先端及び非先端領域に結合するハイブリドーマクローンの重鎖及び軽鎖可変領域配列を表す。配列は、エピトープ及び配列類似性によってクラスＩ～ＩＩＩ（先端結合）とクラスＩＶ（非先端結合）へ更に再分割することができる。Ｋａｂａｔに従ったＨＶＲを下線で示す。

【図３Ａ－２】図３Ａ－１、３Ａ－２、３Ｂ－１、３Ｂ－２、３Ｃ－１、３Ｃ－２、３Ｄ－１及び３Ｄ－２は、ＴｆＲの先端及び非先端領域に結合するハイブリドーマクローンの重鎖及び軽鎖可変領域配列を表す。配列は、エピトープ及び配列類似性によってクラスＩ～ＩＩＩ（先端結合）とクラスＩＶ（非先端結合）へ更に再分割することができる。Ｋａｂａｔに従ったＨＶＲを下線で示す。

【図３Ｂ－１】図３Ａ－１、３Ａ－２、３Ｂ－１、３Ｂ－２、３Ｃ－１、３Ｃ－２、３Ｄ

－１及び３Ｄ－２は、ＴｆＲの先端及び非先端領域に結合するハイブリドーマクローンの重鎖及び軽鎖可変領域配列を表す。配列は、エピトープ及び配列類似性によってクラスＩ～ＩＩＩ（先端結合）とクラスＩＶ（非先端結合）へ更に再分割することができる。Ｋａｂａｔに従ったＨＶＲを下線で示す。

【図３Ｂ－２】図３Ａ－１、３Ａ－２、３Ｂ－１、３Ｂ－２、３Ｃ－１、３Ｃ－２、３Ｄ－１及び３Ｄ－２は、ＴｆＲの先端及び非先端領域に結合するハイブリドーマクローンの重鎖及び軽鎖可変領域配列を表す。配列は、エピトープ及び配列類似性によってクラスＩ～ＩＩＩ（先端結合）とクラスＩＶ（非先端結合）へ更に再分割することができる。Ｋａｂａｔに従ったＨＶＲを下線で示す。

【図３Ｃ－１】図３Ａ－１、３Ａ－２、３Ｂ－１、３Ｂ－２、３Ｃ－１、３Ｃ－２、３Ｄ－１及び３Ｄ－２は、ＴｆＲの先端及び非先端領域に結合するハイブリドーマクローンの重鎖及び軽鎖可変領域配列を表す。配列は、エピトープ及び配列類似性によってクラスＩ～ＩＩＩ（先端結合）とクラスＩＶ（非先端結合）へ更に再分割することができる。Ｋａｂａｔに従ったＨＶＲを下線で示す。

【図３Ｃ－２】図３Ａ－１、３Ａ－２、３Ｂ－１、３Ｂ－２、３Ｃ－１、３Ｃ－２、３Ｄ－１及び３Ｄ－２は、ＴｆＲの先端及び非先端領域に結合するハイブリドーマクローンの重鎖及び軽鎖可変領域配列を表す。配列は、エピトープ及び配列類似性によってクラスＩ～ＩＩＩ（先端結合）とクラスＩＶ（非先端結合）へ更に再分割することができる。Ｋａｂａｔに従ったＨＶＲを下線で示す。

【図３Ｄ－１】図３Ａ－１、３Ａ－２、３Ｂ－１、３Ｂ－２、３Ｃ－１、３Ｃ－２、３Ｄ－１及び３Ｄ－２は、ＴｆＲの先端及び非先端領域に結合するハイブリドーマクローンの重鎖及び軽鎖可変領域配列を表す。配列は、エピトープ及び配列類似性によってクラスＩ～ＩＩＩ（先端結合）とクラスＩＶ（非先端結合）へ更に再分割することができる。Ｋａｂａｔに従ったＨＶＲを下線で示す。

【図３Ｄ－２】図３Ａ－１、３Ａ－２、３Ｂ－１、３Ｂ－２、３Ｃ－１、３Ｃ－２、３Ｄ－１及び３Ｄ－２は、ＴｆＲの先端及び非先端領域に結合するハイブリドーマクローンの重鎖及び軽鎖可変領域配列を表す。配列は、エピトープ及び配列類似性によってクラスＩ～ＩＩＩ（先端結合）とクラスＩＶ（非先端結合）へ更に再分割することができる。Ｋａｂａｔに従ったＨＶＲを下線で示す。

【図４Ａ－１】図４Ａ－１、４Ａ－２、４Ｂ－１、４Ｂ－２、４Ｃ－１、４Ｃ－２、４Ｄ－１及び４Ｄ－２は、（Ａ）１５Ｇ１１、（Ｂ）７Ａ４／８Ａ２、（Ｃ）７Ｇ７及び（Ｄ）１６Ｆ６に対するヒト化配列の整列を表す。各マウス軽鎖または重鎖可変ドメイン配列（第２列）を最も近似なヒト生殖細胞系またはコンセンサス可変ドメイン（第１列）に整列化した。各抗体のヒト化版を底（第３列）に示す。ヒト生殖細胞系またはコンセンサス配列との相違に陰影をつけた。ヒトフレームワークに移植したＨＶＲ配列を囲んだ。Ｋａｂａｔに従ったＣＤＲを下線で示す。図４Ｅ－１及び４Ｅ－２は、抗体のクラスＩ－ＩＩＩ群に関して、ＦＲの１つ以上の残基に修飾を有する抗体の異型が親和性及び結合特異性を保持したことを示す。

【図４Ａ－２】図４Ａ－１、４Ａ－２、４Ｂ－１、４Ｂ－２、４Ｃ－１、４Ｃ－２、４Ｄ－１及び４Ｄ－２は、（Ａ）１５Ｇ１１、（Ｂ）７Ａ４／８Ａ２、（Ｃ）７Ｇ７及び（Ｄ）１６Ｆ６に対するヒト化配列の整列を表す。各マウス軽鎖または重鎖可変ドメイン配列（第２列）を最も近似なヒト生殖細胞系またはコンセンサス可変ドメイン（第１列）に整列化した。各抗体のヒト化版を底（第３列）に示す。ヒト生殖細胞系またはコンセンサス配列との相違に陰影をつけた。ヒトフレームワークに移植したＨＶＲ配列を囲んだ。Ｋａｂａｔに従ったＣＤＲを下線で示す。図４Ｅ－１及び４Ｅ－２は、抗体のクラスＩ－ＩＩＩ群に関して、ＦＲの１つ以上の残基に修飾を有する抗体の異型が親和性及び結合特異性を保持したことを示す。

【図４Ｂ－１】図４Ａ－１、４Ａ－２、４Ｂ－１、４Ｂ－２、４Ｃ－１、４Ｃ－２、４Ｄ－１及び４Ｄ－２は、（Ａ）１５Ｇ１１、（Ｂ）７Ａ４／８Ａ２、（Ｃ）７Ｇ７及び（Ｄ）１６Ｆ６に対するヒト化配列の整列を表す。各マウス軽鎖または重鎖可変ドメイン配列

（第２列）を最も近似なヒト生殖細胞系またはコンセンサス可変ドメイン（第１列）に整列化した。各抗体のヒト化版を底（第３列）に示す。ヒト生殖細胞系またはコンセンサス配列との相違に陰影をつけた。ヒトフレームワークに移植したＨＶＲ配列を囲んだ。Ｋａｂａｔに従ったＣＤＲを下線で示す。図４Ｅ－１及び４Ｅ－２は、抗体のクラスＩ－ＩＩＩ群に関して、ＦＲの１つ以上の残基に修飾を有する抗体の異型が親和性及び結合特異性を保持したことを示す。

【図４Ｂ－２】図４Ａ－１、４Ａ－２、４Ｂ－１、４Ｂ－２、４Ｃ－１、４Ｃ－２、４Ｄ－１及び４Ｄ－２は、（Ａ）１５Ｇ１１、（Ｂ）７Ａ４／８Ａ２、（Ｃ）７Ｇ７及び（Ｄ）１６Ｆ６に対するヒト化配列の整列を表す。各マウス軽鎖または重鎖可変ドメイン配列（第２列）を最も近似なヒト生殖細胞系またはコンセンサス可変ドメイン（第１列）に整列化した。各抗体のヒト化版を底（第３列）に示す。ヒト生殖細胞系またはコンセンサス配列との相違に陰影をつけた。ヒトフレームワークに移植したＨＶＲ配列を囲んだ。Ｋａｂａｔに従ったＣＤＲを下線で示す。図４Ｅ－１及び４Ｅ－２は、抗体のクラスＩ－ＩＩＩ群に関して、ＦＲの１つ以上の残基に修飾を有する抗体の異型が親和性及び結合特異性を保持したことを示す。

【図４Ｃ－１】図４Ａ－１、４Ａ－２、４Ｂ－１、４Ｂ－２、４Ｃ－１、４Ｃ－２、４Ｄ－１及び４Ｄ－２は、（Ａ）１５Ｇ１１、（Ｂ）７Ａ４／８Ａ２、（Ｃ）７Ｇ７及び（Ｄ）１６Ｆ６に対するヒト化配列の整列を表す。各マウス軽鎖または重鎖可変ドメイン配列（第２列）を最も近似なヒト生殖細胞系またはコンセンサス可変ドメイン（第１列）に整列化した。各抗体のヒト化版を底（第３列）に示す。ヒト生殖細胞系またはコンセンサス配列との相違に陰影をつけた。ヒトフレームワークに移植したＨＶＲ配列を囲んだ。Ｋａｂａｔに従ったＣＤＲを下線で示す。図４Ｅ－１及び４Ｅ－２は、抗体のクラスＩ－ＩＩＩ群に関して、ＦＲの１つ以上の残基に修飾を有する抗体の異型が親和性及び結合特異性を保持したことを示す。

【図４Ｃ－２】図４Ａ－１、４Ａ－２、４Ｂ－１、４Ｂ－２、４Ｃ－１、４Ｃ－２、４Ｄ－１及び４Ｄ－２は、（Ａ）１５Ｇ１１、（Ｂ）７Ａ４／８Ａ２、（Ｃ）７Ｇ７及び（Ｄ）１６Ｆ６に対するヒト化配列の整列を表す。各マウス軽鎖または重鎖可変ドメイン配列（第２列）を最も近似なヒト生殖細胞系またはコンセンサス可変ドメイン（第１列）に整列化した。各抗体のヒト化版を底（第３列）に示す。ヒト生殖細胞系またはコンセンサス配列との相違に陰影をつけた。ヒトフレームワークに移植したＨＶＲ配列を囲んだ。Ｋａｂａｔに従ったＣＤＲを下線で示す。図４Ｅ－１及び４Ｅ－２は、抗体のクラスＩ－ＩＩＩ群に関して、ＦＲの１つ以上の残基に修飾を有する抗体の異型が親和性及び結合特異性を保持したことを示す。

【図４Ｄ－１】図４Ａ－１、４Ａ－２、４Ｂ－１、４Ｂ－２、４Ｃ－１、４Ｃ－２、４Ｄ－１及び４Ｄ－２は、（Ａ）１５Ｇ１１、（Ｂ）７Ａ４／８Ａ２、（Ｃ）７Ｇ７及び（Ｄ）１６Ｆ６に対するヒト化配列の整列を表す。各マウス軽鎖または重鎖可変ドメイン配列（第２列）を最も近似なヒト生殖細胞系またはコンセンサス可変ドメイン（第１列）に整列化した。各抗体のヒト化版を底（第３列）に示す。ヒト生殖細胞系またはコンセンサス配列との相違に陰影をつけた。ヒトフレームワークに移植したＨＶＲ配列を囲んだ。Ｋａｂａｔに従ったＣＤＲを下線で示す。図４Ｅ－１及び４Ｅ－２は、抗体のクラスＩ－ＩＩＩ群に関して、ＦＲの１つ以上の残基に修飾を有する抗体の異型が親和性及び結合特異性を保持したことを示す。

【図４Ｄ－２】図４Ａ－１、４Ａ－２、４Ｂ－１、４Ｂ－２、４Ｃ－１、４Ｃ－２、４Ｄ－１及び４Ｄ－２は、（Ａ）１５Ｇ１１、（Ｂ）７Ａ４／８Ａ２、（Ｃ）７Ｇ７及び（Ｄ）１６Ｆ６に対するヒト化配列の整列を表す。各マウス軽鎖または重鎖可変ドメイン配列（第２列）を最も近似なヒト生殖細胞系またはコンセンサス可変ドメイン（第１列）に整列化した。各抗体のヒト化版を底（第３列）に示す。ヒト生殖細胞系またはコンセンサス配列との相違に陰影をつけた。ヒトフレームワークに移植したＨＶＲ配列を囲んだ。Ｋａｂａｔに従ったＣＤＲを下線で示す。図４Ｅ－１及び４Ｅ－２は、抗体のクラスＩ－ＩＩＩ群に関して、ＦＲの１つ以上の残基に修飾を有する抗体の異型が親和性及び結合特異性

を保持したことを示す。
【図４Ｅ－１】図４Ａ－１、４Ａ－２、４Ｂ－１、４Ｂ－２、４Ｃ－１、４Ｃ－２、４Ｄ－１及び４Ｄ－２は、（Ａ）１５Ｇ１１、（Ｂ）７Ａ４／８Ａ２、（Ｃ）７Ｇ７及び（Ｄ）１６Ｆ６に対するヒト化配列の整列を表す。各マウス軽鎖または重鎖可変ドメイン配列（第２列）を最も近似なヒト生殖細胞系またはコンセンサス可変ドメイン（第１列）に整列化した。各抗体のヒト化版を底（第３列）に示す。ヒト生殖細胞系またはコンセンサス配列との相違に陰影をつけた。ヒトフレームワークに移植したＨＶＲ配列を囲んだ。Ｋａｂａｔに従ったＣＤＲを下線で示す。図４Ｅ－１及び４Ｅ－２は、抗体のクラスＩ－ＩＩＩ群に関して、ＦＲの１つ以上の残基に修飾を有する抗体の異型が親和性及び結合特異性を保持したことを示す。
【図４Ｅ－２】図４Ａ－１、４Ａ－２、４Ｂ－１、４Ｂ－２、４Ｃ－１、４Ｃ－２、４Ｄ－１及び４Ｄ－２は、（Ａ）１５Ｇ１１、（Ｂ）７Ａ４／８Ａ２、（Ｃ）７Ｇ７及び（Ｄ）１６Ｆ６に対するヒト化配列の整列を表す。各マウス軽鎖または重鎖可変ドメイン配列（第２列）を最も近似なヒト生殖細胞系またはコンセンサス可変ドメイン（第１列）に整列化した。各抗体のヒト化版を底（第３列）に示す。ヒト生殖細胞系またはコンセンサス配列との相違に陰影をつけた。ヒトフレームワークに移植したＨＶＲ配列を囲んだ。Ｋａｂａｔに従ったＣＤＲを下線で示す。図４Ｅ－１及び４Ｅ－２は、抗体のクラスＩ－ＩＩＩ群に関して、ＦＲの１つ以上の残基に修飾を有する抗体の異型が親和性及び結合特異性を保持したことを示す。
【図５】６．３μＭのｈｏｌｏ－Ｔｆの存在下、ｈｕ７Ａ４．ｖ１５、ｈｕ１５Ｇ１１．ｖ５及びｈｕ７Ｇ７．ｖ１のｈｕＴｆＲへの結合を表す。固定化ｈｕＴｆＲへの抗体結合を、６．３μＭ　ｈｏｌｏ－Ｔｆの存在の有（塗りつぶされていない記号及び破線）無（塗りつぶされている記号及び実線）で示す。
【図６Ａ】図６Ａ－Ｂは、実施例１に記載したＨＦＥ－ＨｕＴｆＲ結合及びＨＦＥブロッキングアッセイの結果を表す。図６Ａは、固定化ＨＦＥを介して捕獲されたｈｕＴｆＲの漸増濃度に対する抗体結合を示す。図６Ｂは、抗体の漸増濃度増大がある場合の固定化ＨＦＥへのｈｕＴｆＲの結合を表す。
【図６Ｂ】図６Ａ－Ｂは、実施例１に記載したＨＦＥ－ＨｕＴｆＲ結合及びＨＦＥブロッキングアッセイの結果を表す。図６Ａは、固定化ＨＦＥを介して捕獲されたｈｕＴｆＲの漸増濃度に対する抗体結合を示す。図６Ｂは、抗体の漸増濃度増大がある場合の固定化ＨＦＥへのｈｕＴｆＲの結合を表す。
【図７Ａ】図７Ａ－Ｂは、実施例２で記載する、ヒトまたはカニクイザルＴｆＲにおける１５Ｇ１１．ｖ５及び７Ａ４．ｖ５　ＩｇＧならびにＦａｂ　Ａｌａ変異体の結合分析を表し、固定化ヒトまたはカニクイザルＴｆＲに対する、ＥＬＩＳＡ結合によるＩｇＧまたはＳＰＲ分析によるＩｇＧ若しくはＦａｂとして評価した各抗体のＣＤＲ－Ｌ３及びＣＤＲ－Ｈ３でのＡｌａ変異の親和性に及ぼす影響を示す。
【図７Ｂ】図７Ａ－Ｂは、実施例２で記載する、ヒトまたはカニクイザルＴｆＲにおける１５Ｇ１１．ｖ５及び７Ａ４．ｖ５　ＩｇＧならびにＦａｂ　Ａｌａ変異体の結合分析を表し、固定化ヒトまたはカニクイザルＴｆＲに対する、ＥＬＩＳＡ結合によるＩｇＧまたはＳＰＲ分析によるＩｇＧ若しくはＦａｂとして評価した各抗体のＣＤＲ－Ｌ３及びＣＤＲ－Ｈ３でのＡｌａ変異の親和性に及ぼす影響を示す。
【図８Ａ】図８Ａ－Ｂ及び図９Ａ－Ｂは、実施例４で記載する、正常ヒト骨髄単核球細胞またはヒト赤芽球細胞株における抗ヒトＴｆＲ（「抗－ｈＴＦＲ」）抗体のＡＤＣＣ活性に与えるエフェクター機能状態の影響を評価する実験結果を表す。
【図８Ｂ】図８Ａ－Ｂ及び図９Ａ－Ｂは、実施例４で記載する、正常ヒト骨髄単核球細胞またはヒト赤芽球細胞株における抗ヒトＴｆＲ（「抗－ｈＴＦＲ」）抗体のＡＤＣＣ活性に与えるエフェクター機能状態の影響を評価する実験結果を表す。
【図９Ａ】図８Ａ－Ｂ及び図９Ａ－Ｂは、実施例４で記載する、正常ヒト骨髄単核球細胞またはヒト赤芽球細胞株における抗ヒトＴｆＲ（「抗－ｈＴＦＲ」）抗体のＡＤＣＣ活性に与えるエフェクター機能状態の影響を評価する実験結果を表す。

【図９Ｂ】図８Ａ－Ｂ及び図９Ａ－Ｂは、実施例４で記載する、正常ヒト骨髄単核球細胞またはヒト赤芽球細胞株における抗ヒトＴｆＲ（「抗－ｈＴＦＲ」）抗体のＡＤＣＣ活性に与えるエフェクター機能状態の影響を評価する実験結果を表す。
【図１０】実施例５で記載する霊長類試験での投与及び抜取表を表す。
【図１１Ａ】図１１Ａ－１１Ｂは、実施例５で記載する実験の薬物動態の結果、具体的には、血清（図１１Ａ）及びＣＳＦ（図１１Ｂ）で、カニクイザルにおける３０ｍｇ／ｋｇでの単回ＩＶボーラス投与後の個体及び群の平均抗TfR^1／ＢＡＣＥ１、抗TfR^2／ＢＡＣＥ１及び抗ｇＤ血清中濃度対時間を表す。
【図１１Ｂ】図１１Ａ－１１Ｂは、実施例５で記載する実験の薬物動態の結果、具体的には、血清（図１１Ａ）及びＣＳＦ（図１１Ｂ）で、カニクイザルにおける３０ｍｇ／ｋｇでの単回ＩＶボーラス投与後の個体及び群の平均抗TfR^1／ＢＡＣＥ１、抗TfR^2／ＢＡＣＥ１及び抗ｇＤ血清中濃度対時間を表す。
【図１２Ａ】図１２Ａ－１２Ｅは、実施例５で記載する実験の薬力学結果、具体的には、カニクイザルにおける３０ｍｇ／ｋｇでの単回静注ボーラス投与後の個体及び群の平均抗TfR^1／ＢＡＣＥ１、抗TfR^2／ＢＡＣＥ１及び抗ｇＤ血漿（Ａ）またはＣＳＦ（Ｂ－Ｅ）濃度対時間を表す。上部パネルは血漿（図１２Ａ）及びＣＳＦ（図１２Ｂ）でＡｂｅｔａ１－４０レベルを示す一方、下部パネルは、経時でＡＰＰαレベル（図１２Ｃ）、可溶性ＡＰＰβレベル（図１２Ｄ）及びｓＡＰＰβ／ｓＡＰＰα比（図１２Ｅ）を示す。
【図１２Ｂ】図１２Ａ－１２Ｅは、実施例５で記載する実験の薬力学結果、具体的には、カニクイザルにおける３０ｍｇ／ｋｇでの単回静注ボーラス投与後の個体及び群の平均抗TfR^1／ＢＡＣＥ１、抗TfR^2／ＢＡＣＥ１及び抗ｇＤ血漿（Ａ）またはＣＳＦ（Ｂ－Ｅ）濃度対時間を表す。上部パネルは血漿（図１２Ａ）及びＣＳＦ（図１２Ｂ）でＡｂｅｔａ１－４０レベルを示す一方、下部パネルは、経時でＡＰＰαレベル（図１２Ｃ）、可溶性ＡＰＰβレベル（図１２Ｄ）及びｓＡＰＰβ／ｓＡＰＰα比（図１２Ｅ）を示す。
【図１２Ｃ】図１２Ａ－１２Ｅは、実施例５で記載する実験の薬力学結果、具体的には、カニクイザルにおける３０ｍｇ／ｋｇでの単回静注ボーラス投与後の個体及び群の平均抗TfR^1／ＢＡＣＥ１、抗TfR^2／ＢＡＣＥ１及び抗ｇＤ血漿（Ａ）またはＣＳＦ（Ｂ－Ｅ）濃度対時間を表す。上部パネルは血漿（図１２Ａ）及びＣＳＦ（図１２Ｂ）でＡｂｅｔａ１－４０レベルを示す一方、下部パネルは、経時でＡＰＰαレベル（図１２Ｃ）、可溶性ＡＰＰβレベル（図１２Ｄ）及びｓＡＰＰβ／ｓＡＰＰα比（図１２Ｅ）を示す。
【図１２Ｄ】図１２Ａ－１２Ｅは、実施例５で記載する実験の薬力学結果、具体的には、カニクイザルにおける３０ｍｇ／ｋｇでの単回静注ボーラス投与後の個体及び群の平均抗TfR^1／ＢＡＣＥ１、抗TfR^2／ＢＡＣＥ１及び抗ｇＤ血漿（Ａ）またはＣＳＦ（Ｂ－Ｅ）濃度対時間を表す。上部パネルは血漿（図１２Ａ）及びＣＳＦ（図１２Ｂ）でＡｂｅｔａ１－４０レベルを示す一方、下部パネルは、経時でＡＰＰαレベル（図１２Ｃ）、可溶性ＡＰＰβレベル（図１２Ｄ）及びｓＡＰＰβ／ｓＡＰＰα比（図１２Ｅ）を示す。
【図１２Ｅ】図１２Ａ－１２Ｅは、実施例５で記載する実験の薬力学結果、具体的には、カニクイザルにおける３０ｍｇ／ｋｇでの単回静注ボーラス投与後の個体及び群の平均抗TfR^1／ＢＡＣＥ１、抗TfR^2／ＢＡＣＥ１及び抗ｇＤ血漿（Ａ）またはＣＳＦ（Ｂ－Ｅ）濃度対時間を表す。上部パネルは血漿（図１２Ａ）及びＣＳＦ（図１２Ｂ）でＡｂｅｔａ１－４０レベルを示す一方、下部パネルは、経時でＡＰＰαレベル（図１２Ｃ）、可溶性ＡＰＰβレベル（図１２Ｄ）及びｓＡＰＰβ／ｓＡＰＰα比（図１２Ｅ）を示す。
【図１３Ａ】図１３Ａ－１３Ｄは、実施例５で記載する試験の間で行った血液学的採取の結果を表す。示された各時点で、総網状赤血球（図１３Ａ）、赤血球（図１３Ｂ）、ヘモグロビン（図１３Ｄ）及び全体の網状赤血球プールにおける未成熟網状赤血球の比率（図１３Ｃ）を標準技術を使用して測定した。
【図１３Ｂ】図１３Ａ－１３Ｄは、実施例５で記載する試験の間で行った血液学的採取の結果を表す。示された各時点で、総網状赤血球（図１３Ａ）、赤血球（図１３Ｂ）、ヘモグロビン（図１３Ｄ）及び全体の網状赤血球プールにおける未成熟網状赤血球の比率（図１３Ｃ）を標準技術を使用して測定した。

【図１３Ｃ】図１３Ａ－１３Ｄは、実施例５で記載する試験の間で行った血液学的採取の結果を表す。示された各時点で、総網状赤血球（図１３Ａ）、赤血球（図１３Ｂ）、ヘモグロビン（図１３Ｄ）及び全体の網状赤血球プールにおける未成熟網状赤血球の比率（図１３Ｃ）を標準技術を使用して測定した。
【図１３Ｄ】図１３Ａ－１３Ｄは、実施例５で記載する試験の間で行った血液学的採取の結果を表す。示された各時点で、総網状赤血球（図１３Ａ）、赤血球（図１３Ｂ）、ヘモグロビン（図１３Ｄ）及び全体の網状赤血球プールにおける未成熟網状赤血球の比率（図１３Ｃ）を標準技術を使用して測定した。
【図１４】実施例６で記載する霊長類試験での投与及び抜取表を表す。
【図１５Ａ】図１５Ａ－１５Ｂは、実施例６で記載する実験の薬力学結果（Ａ）及び脳抗体濃度（Ｂ）を表す。具体的には、図１５Ａは、カニクイザルにおける３０ｍｇ／ｋｇでの単回静注ボーラス投与後の、個体及び群の平均抗ＴｆＲ^{1}／ＢＡＣＥ１、抗ＴｆＲ^{2}／ＢＡＣＥ１、抗ｇＤ及びＣＳＦでのｓＡＰＰβ／ｓＡＰＰαの抗ＢＡＣＥ１分配量対時間を示す。図１５Ｂは、投与２４時間後での種々の脳領域における個体の抗ＴｆＲ^{1}／ＢＡＣＥ１、抗ＴｆＲ^{2}／ＢＡＣＥ１、抗ｇＤ及び抗体の抗ＢＡＣＥ１濃度を示す。
【図１５Ｂ】図１５Ａ－１５Ｂは、実施例６で記載する実験の薬力学結果（Ａ）及び脳抗体濃度（Ｂ）を表す。具体的には、図１５Ａは、カニクイザルにおける３０ｍｇ／ｋｇでの単回静注ボーラス投与後の、個体及び群の平均抗ＴｆＲ^{1}／ＢＡＣＥ１、抗ＴｆＲ^{2}／ＢＡＣＥ１、抗ｇＤ及びＣＳＦでのｓＡＰＰβ／ｓＡＰＰαの抗ＢＡＣＥ１分配量対時間を示す。図１５Ｂは、投与２４時間後での種々の脳領域における個体の抗ＴｆＲ^{1}／ＢＡＣＥ１、抗ＴｆＲ^{2}／ＢＡＣＥ１、抗ｇＤ及び抗体の抗ＢＡＣＥ１濃度を示す。
【図１６Ａ】図１６Ａ－Ｂは、自然多様性ファージディスプレイライブラリーのナイーブソート及びＹＷ４１２．８の親和性成熟形態から得られた抗ＢＡＣＥ１クローンＹＷ４１２．８の軽鎖及び重鎖アミノ酸配列を表す。図１６Ａは、可変軽鎖（ＶＬ）配列アラインメント（配列番号１３２～１３７）を表す。図１６Ｂは、可変重鎖（ＶＨ）配列アラインメント（配列番号１３８～１３９）を表す。両図において、各クローンのＨＶＲ配列がボックスでかこまれた領域で示され、最初のボックスはＨＶＲ－Ｌ１（図１６Ａ）またはＨＶＲ－Ｈ１（図１６Ｂ）を示し、２番目のボックスはＨＶＲ－Ｌ２（図１６Ａ）またはＨＶＲ－Ｈ２（図１６Ｂ）を示し、３番目のボックスはＨＶＲ－Ｌ３（図１６Ａ）またはＨＶＲ－Ｈ３（図１６Ｂ）を示す。
【図１６Ｂ】図１６Ａ－Ｂは、自然多様性ファージディスプレイライブラリーのナイーブソート及びＹＷ４１２．８の親和性成熟形態から得られた抗ＢＡＣＥ１クローンＹＷ４１２．８の軽鎖及び重鎖アミノ酸配列を表す。図１６Ａは、可変軽鎖（ＶＬ）配列アラインメント（配列番号１３２～１３７）を表す。図１６Ｂは、可変重鎖（ＶＨ）配列アラインメント（配列番号１３８～１３９）を表す。両図において、各クローンのＨＶＲ配列がボックスでかこまれた領域で示され、最初のボックスはＨＶＲ－Ｌ１（図１６Ａ）またはＨＶＲ－Ｈ１（図１６Ｂ）を示し、２番目のボックスはＨＶＲ－Ｌ２（図１６Ａ）またはＨＶＲ－Ｈ２（図１６Ｂ）を示し、３番目のボックスはＨＶＲ－Ｌ３（図１６Ａ）またはＨＶＲ－Ｈ３（図１６Ｂ）を示す。
【図１７】実施例７で記載するＦｃエフェクター機能ＬＡＬＡＰＧ変異を有するマウスＩｇＧ２ａ抗ＴｆＲ^{D}／ＢＡＣＥ１及び抗ｇＤ抗体の薬物動態特性を表す。
【図１８Ａ】実施例７で記載するＦｃエフェクター機能ＬＡＬＡＰＧ変異を有するマウスＩｇＧ２ａ抗－ＴｆＲ^{D}／ＢＡＣＥ１及び抗ｇＤ抗体の５０ｍｇ／ｋｇ用量の投与後２４時間でのマウスの総および未成熟網状赤血球数を表す。
【図１８Ｂ】実施例７で記載するＦｃエフェクター機能ＬＡＬＡＰＧ変異を有するマウスＩｇＧ２ａ抗－ＴｆＲ^{D}／ＢＡＣＥ１及び抗ｇＤ抗体の５０ｍｇ／ｋｇ用量の投与後２４時間でのマウスの総および未成熟網状赤血球数を表す。
【図１９Ａ】１５Ｇ１１ｖ．５（軽鎖－配列番号４０１及び重鎖－配列番号１０８）、親和性変異体１５Ｇ１１．５２Ａ（軽鎖－配列番号４０１及び重鎖－配列番号４０３）、１５Ｇ１１．５３Ａ（軽鎖－配列番号４０１及び重鎖－配列番号４０４）、及び１５Ｇ１１

．９２Ａ（軽鎖－配列番号４０２及び重鎖－配列番号１０８）の重鎖及び軽鎖可変領域配列を表す。Ｋａｂａｔに従ったＨＶＲを下線で示す。
【図１９Ｂ】１５Ｇ１１ｖ．５（軽鎖－配列番号４０１及び重鎖－配列番号１０８）、親和性変異体１５Ｇ１１．５２Ａ（軽鎖－配列番号４０１及び重鎖－配列番号４０３）、１５Ｇ１１．５３Ａ（軽鎖－配列番号４０１及び重鎖－配列番号４０４）、及び１５Ｇ１１．９２Ａ（軽鎖－配列番号４０２及び重鎖－配列番号１０８）の重鎖及び軽鎖可変領域配列を表す。Ｋａｂａｔに従ったＨＶＲを下線で示す。
【図２０】実施例１で記載する１５Ｇ１１ｖ．５と抗ＴｆＲ^{C12}の間の競合アッセイを表す。
【図２１Ａ】図２１Ａ－２１Ｄは、本明細書に記載する、エピトープビンならびにある特定の抗－ＢＡＣＥ１抗体の重鎖ＨＶＲ－Ｈ１、ＨＶＲ－Ｈ２及びＨＶＲ－Ｈ３配列を示す。
【図２１Ｂ】図２１Ａ－２１Ｄは、本明細書に記載する、エピトープビンならびにある特定の抗－ＢＡＣＥ１抗体の重鎖ＨＶＲ－Ｈ１、ＨＶＲ－Ｈ２及びＨＶＲ－Ｈ３配列を示す。
【図２１Ｃ】図２１Ａ－２１Ｄは、本明細書に記載する、エピトープビンならびにある特定の抗－ＢＡＣＥ１抗体の重鎖ＨＶＲ－Ｈ１、ＨＶＲ－Ｈ２及びＨＶＲ－Ｈ３配列を示す。
【図２１Ｄ】図２１Ａ－２１Ｄは、本明細書に記載する、エピトープビンならびにある特定の抗－ＢＡＣＥ１抗体の重鎖ＨＶＲ－Ｈ１、ＨＶＲ－Ｈ２及びＨＶＲ－Ｈ３配列を示す。
【図２２Ａ】図２２Ａ－２２Ｃは、本明細書に記載する、エピトープビンならびにある特定の抗－ＢＡＣＥ１抗体の軽鎖ＨＶＲ－Ｌ１、ＨＶＲ－Ｌ２及びＨＶＲ－Ｌ３配列を示す。
【図２２Ｂ】図２２Ａ－２２Ｃは、本明細書に記載する、エピトープビンならびにある特定の抗－ＢＡＣＥ１抗体の軽鎖ＨＶＲ－Ｌ１、ＨＶＲ－Ｌ２及びＨＶＲ－Ｌ３配列を示す。
【図２２Ｃ】図２２Ａ－２２Ｃは、本明細書に記載する、エピトープビンならびにある特定の抗－ＢＡＣＥ１抗体の軽鎖ＨＶＲ－Ｌ１、ＨＶＲ－Ｌ２及びＨＶＲ－Ｌ３配列を示す。
【図２３Ａ】図２３Ａ－２３Ｇは、本明細書に記載する、エピトープビン及びある特定の抗－ＢＡＣＥ１抗体の重鎖可変領域（ＶＨ）配列を示す。
【図２３Ｂ】図２３Ａ－２３Ｇは、本明細書に記載する、エピトープビン及びある特定の抗－ＢＡＣＥ１抗体の重鎖可変領域（ＶＨ）配列を示す。
【図２３Ｃ】図２３Ａ－２３Ｇは、本明細書に記載する、エピトープビン及びある特定の抗－ＢＡＣＥ１抗体の重鎖可変領域（ＶＨ）配列を示す。
【図２３Ｄ】図２３Ａ－２３Ｇは、本明細書に記載する、エピトープビン及びある特定の抗－ＢＡＣＥ１抗体の重鎖可変領域（ＶＨ）配列を示す。
【図２３Ｅ】図２３Ａ－２３Ｇは、本明細書に記載する、エピトープビン及びある特定の抗－ＢＡＣＥ１抗体の重鎖可変領域（ＶＨ）配列を示す。
【図２３Ｆ】図２３Ａ－２３Ｇは、本明細書に記載する、エピトープビン及びある特定の抗－ＢＡＣＥ１抗体の重鎖可変領域（ＶＨ）配列を示す。
【図２３Ｇ】図２３Ａ－２３Ｇは、本明細書に記載する、エピトープビン及びある特定の抗－ＢＡＣＥ１抗体の重鎖可変領域（ＶＨ）配列を示す。
【図２４Ａ】図２４Ａ－２４Ｆは、本明細書に記載する、エピトープビン及び本明細書に記載した特定の抗－ＢＡＣＥ１抗体の軽鎖可変領域（ＶＬ）配列を示す。
【図２４Ｂ】図２４Ａ－２４Ｆは、本明細書に記載する、エピトープビン及び本明細書に記載した特定の抗－ＢＡＣＥ１抗体の軽鎖可変領域（ＶＬ）配列を示す。
【図２４Ｃ】図２４Ａ－２４Ｆは、本明細書に記載する、エピトープビン及び本明細書に記載した特定の抗－ＢＡＣＥ１抗体の軽鎖可変領域（ＶＬ）配列を示す。

【図２４Ｄ】図２４Ａ－２４Ｆは、本明細書に記載する、エピトープビン及び本明細書に記載した特定の抗－ＢＡＣＥ１抗体の軽鎖可変領域（ＶＬ）配列を示す。
【図２４Ｅ】図２４Ａ－２４Ｆは、本明細書に記載する、エピトープビン及び本明細書に記載した特定の抗－ＢＡＣＥ１抗体の軽鎖可変領域（ＶＬ）配列を示す。
【図２４Ｆ】図２４Ａ－２４Ｆは、本明細書に記載する、エピトープビン及び本明細書に記載した特定の抗－ＢＡＣＥ１抗体の軽鎖可変領域（ＶＬ）配列を示す。
【図２５Ａ】図２５Ａ－２５Ｄは、Ｏｃｔｅｔ（登録商標）システム（ＦｏｒｔｅＢｉｏ）を使用して、ｐＨ７．５（カラム２）でのヒトＢＡＣＥ１、ｐＨ７．５（カラム３）でのマウスＢＡＣＥ１、ｐＨ　５．０（カラム４）でのヒトＢＡＣＥ１及びｐＨ５．０（カラム５）でのマウスＢＡＣＥ１に対する特定抗ＢＡＣＥ１抗体の親和性（K_D）、ならびに表面プラズモン共鳴（Ｂｉａｃｏｒｅ（商標））によるヒトＢＡＣＥ１に対するある特定の抗－ＢＡＣＥ１抗体の親和性（K_D）を示す。ある特定の抗体に対し、２つの別々のアッセイで決定した親和性を示す。
【図２５Ｂ】図２５Ａ－２５Ｄは、Ｏｃｔｅｔ（登録商標）システム（ＦｏｒｔｅＢｉｏ）を使用して、ｐＨ７．５（カラム２）でのヒトＢＡＣＥ１、ｐＨ７．５（カラム３）でのマウスＢＡＣＥ１、ｐＨ　５．０（カラム４）でのヒトＢＡＣＥ１及びｐＨ５．０（カラム５）でのマウスＢＡＣＥ１に対する特定抗ＢＡＣＥ１抗体の親和性（K_D）、ならびに表面プラズモン共鳴（Ｂｉａｃｏｒｅ（商標））によるヒトＢＡＣＥ１に対するある特定の抗－ＢＡＣＥ１抗体の親和性（K_D）を示す。ある特定の抗体に対し、２つの別々のアッセイで決定した親和性を示す。
【図２５Ｃ】図２５Ａ－２５Ｄは、Ｏｃｔｅｔ（登録商標）システム（ＦｏｒｔｅＢｉｏ）を使用して、ｐＨ７．５（カラム２）でのヒトＢＡＣＥ１、ｐＨ７．５（カラム３）でのマウスＢＡＣＥ１、ｐＨ　５．０（カラム４）でのヒトＢＡＣＥ１及びｐＨ５．０（カラム５）でのマウスＢＡＣＥ１に対する特定抗ＢＡＣＥ１抗体の親和性（K_D）、ならびに表面プラズモン共鳴（Ｂｉａｃｏｒｅ（商標））によるヒトＢＡＣＥ１に対するある特定の抗－ＢＡＣＥ１抗体の親和性（K_D）を示す。ある特定の抗体に対し、２つの別々のアッセイで決定した親和性を示す。
【図２５Ｄ】図２５Ａ－２５Ｄは、Ｏｃｔｅｔ（登録商標）システム（ＦｏｒｔｅＢｉｏ）を使用して、ｐＨ７．５（カラム２）でのヒトＢＡＣＥ１、ｐＨ７．５（カラム３）でのマウスＢＡＣＥ１、ｐＨ　５．０（カラム４）でのヒトＢＡＣＥ１及びｐＨ５．０（カラム５）でのマウスＢＡＣＥ１に対する特定抗ＢＡＣＥ１抗体の親和性（K_D）、ならびに表面プラズモン共鳴（Ｂｉａｃｏｒｅ（商標））によるヒトＢＡＣＥ１に対するある特定の抗－ＢＡＣＥ１抗体の親和性（K_D）を示す。ある特定の抗体に対し、２つの別々のアッセイで決定した親和性を示す。
【図２６】短基質アッセイを使用した抗－ＢＡＣＥ１抗体によるＢＡＣＥ１活性の調節を表す。
【図２７Ａ】図２７Ａ－２７Ｂは、長基質及び短基質アッセイを使用した抗ＢＡＣＥ１抗体によるＢＡＣＥ１活性の調節を示す。
【図２７Ｂ】図２７Ａ－２７Ｂは、長基質及び短基質アッセイを使用した抗ＢＡＣＥ１抗体によるＢＡＣＥ１活性の調節を示す。
【図２８Ａ】図２８Ａ－２８Ｃは、抗ＢＡＣＥ１抗体による細胞のＡＰＰ処理のインビトロ調節を示す。
【図２８Ｂ】図２８Ａ－２８Ｃは、抗ＢＡＣＥ１抗体による細胞のＡＰＰ処理のインビトロ調節を示す。
【図２８Ｃ】図２８Ａ－２８Ｃは、抗ＢＡＣＥ１抗体による細胞のＡＰＰ処理のインビトロ調節を示す。
【図２９】抗ＢＡＣＥ１抗体６２６６、抗ＢＡＣＥ１抗体ＹＷ４１２．８．１３及び二重特異性抗体TfR^2／６２６６とTfR^2／ＹＷ４１２．８．３１によるマウス皮質ノイロンにおけるＢＡＣＥ１活性阻害を表す。
【図３０】二重特異性抗体TfR^D／ＹＷ４１２．８．３１または二重特異性抗体ＴｆＲ

^{D}／６２６６の２５ｍｇ／ｋｇの静脈内投与後のマウスにおける血漿薬物動態（ＰＫ）を示す。
【図３１Ａ】図３１Ａ及び３１Ｂは、二重特異性抗体ＴｆＲ^{D}／ＹＷ４１２．８．３１または二重特異性抗体ＴｆＲ^{D}／６２６６の２５ｍｇ／ｋｇの静脈内投与後のマウスにおける脳（Ａ）薬物動態及び（Ｂ）薬力学を示す。
【図３１Ｂ】図３１Ａ及び３１Ｂは、二重特異性抗体ＴｆＲ^{D}／ＹＷ４１２．８．３１または二重特異性抗体ＴｆＲ^{D}／６２６６の２５ｍｇ／ｋｇの静脈内投与後のマウスにおける脳（Ａ）薬物動態及び（Ｂ）薬力学を示す。
【図３２Ａ】図３２Ａ及び３２Ｂは、二重特異性抗体ＴｆＲ^{1}／ＹＷ４１２．８．３１または二重特異性抗体ＴｆＲ^{1}／６２６６の３０ｍｇ／ｋｇの静脈内投与後のカニクイザルにおける（Ａ）薬物動態及び（Ｂ）薬力学を示す。
【図３２Ｂ】図３２Ａ及び３２Ｂは、二重特異性抗体ＴｆＲ^{1}／ＹＷ４１２．８．３１または二重特異性抗体ＴｆＲ^{1}／６２６６の３０ｍｇ／ｋｇの静脈内投与後のカニクイザルにおける（Ａ）薬物動態及び（Ｂ）薬力学を示す。
【図３３】実施例１４で記載する霊長類試験での投与及び抜取表を表す。
【図３４Ａ】図３４Ａ及び３４Ｂは、二重特異性抗体（Ａ）ＴｆＲ^{2}／６２６６若しくはＴｆＲ^{2}／６２６６　ＦｃＲｎ^{ＨＩＧＨ}，または（Ｂ）ＴｆＲ^{52A}／６２６６若しくはＴｆＲ^{52A}／６２６６　ＦｃＲｎ^{ＨＩＧＨ}の単回３０ｍｇ／ｋｇの静脈内投与後のカニクイザルにおける薬物動態を示す。
【図３４Ｂ】図３４Ａ及び３４Ｂは、二重特異性抗体（Ａ）ＴｆＲ^{2}／６２６６若しくはＴｆＲ^{2}／６２６６　ＦｃＲｎ^{ＨＩＧＨ}，または（Ｂ）ＴｆＲ^{52A}／６２６６若しくはＴｆＲ^{52A}／６２６６　ＦｃＲｎ^{ＨＩＧＨ}の単回３０ｍｇ／ｋｇの静脈内投与後のカニクイザルにおける薬物動態を示す。
【図３５Ａ】図３５Ａ及び３５Ｂは、二重特異性抗体（Ａ）ＴｆＲ^{2}／６２６６若しくはＴｆＲ^{2}／６２６６　ＦｃＲｎＨＩＧＨ，または（Ｂ）ＴｆＲ^{52A}／６２６６若しくはＴｆＲ^{52A}／６２６６　ＦｃＲｎＨＩＧＨの単回３０ｍｇ／ｋｇの静脈内投与後のカニクイザルにおける薬力学を示す。
【図３５Ｂ】図３５Ａ及び３５Ｂは、二重特異性抗体（Ａ）ＴｆＲ^{2}／６２６６若しくはＴｆＲ^{2}／６２６６　ＦｃＲｎＨＩＧＨ，または（Ｂ）ＴｆＲ^{52A}／６２６６若しくはＴｆＲ^{52A}／６２６６　ＦｃＲｎＨＩＧＨの単回３０ｍｇ／ｋｇの静脈内投与後のカニクイザルにおける薬力学を示す。
【図３６Ａ】図３６Ａ－Ｂは、二重特異性抗体ＴｆＲ^{2}／６２６６、ＴｆＲ^{2}／６２６６ＦｃＲｎＨｉｇｈ、ＴｆＲ^{52A}／６２６６またはＴｆＲ^{52A}／６２６６　ＦｃＲｎＨｉｇｈの単回３０ｍｇ／ｋｇの静脈内投与後のカニクイザルにおける網状赤血球レベルを示す。
【図３６Ｂ】図３６Ａ－Ｂは、二重特異性抗体ＴｆＲ^{2}／６２６６、ＴｆＲ^{2}／６２６６ＦｃＲｎＨｉｇｈ、ＴｆＲ^{52A}／６２６６またはＴｆＲ^{52A}／６２６６　ＦｃＲｎＨｉｇｈの単回３０ｍｇ／ｋｇの静脈内投与後のカニクイザルにおける網状赤血球レベルを示す。
【図３７Ａ】図３７Ａ－Ｂは、抗体６２６６の親和性成熟変異体１－７の（Ａ）軽鎖可変領域配列および（Ｂ）重鎖可変領域配列を示す。
【図３７Ｂ】図３７Ａ－Ｂは、抗体６２６６の親和性成熟変異体１－７の（Ａ）軽鎖可変領域配列および（Ｂ）重鎖可変領域配列を示す。
【図３８Ａ】図３８Ａ－Ｂは、抗体６２６６の親和性成熟変異体８－１５の（Ａ）軽鎖可変領域配列および（Ｂ）重鎖可変領域配列を示す。
【図３８Ｂ】図３８Ａ－Ｂは、抗体６２６６の親和性成熟変異体８－１５の（Ａ）軽鎖可変領域配列および（Ｂ）重鎖可変領域配列を示す。
【図３９】抗体６２６６の親和性成熟変異体の親和性定数及び融点を示す。
【発明を実施するための形態】
【００６０】

Ｉ．定義
「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）との非共有相互作用の総量の強さを意味する。特に明記しない限り、本明細書で使用するとき、「結合親和性」は、結合対（例えば、抗体と抗原）のメンバー間の１：１相互作用を反映する固有結合親和性を意味する。分子ＸのパートナーＹに対する親和性は、一般的に解離定数（ＫＤ、ＸのＹからのオフ速度（ｋｄまたはＫｏｆｆ）対ＸのＹへのオン速度（ｋａまたはｋｏｎ）の比）によって表すことができる。１つ以上の抗体の標的に対する親和性の代理測定は、抗体標的への既知リガンドの結合を５０％阻害するのにどの程度の抗体量が必要であるかの測定値、最大半減抑制濃度（ＩＣ５０）である。親和性は、本明細書に記載される方法を含む、当該技術分野で既知の一般的な方法によって測定することができる。結合親和性を測定するための具体的な例示及び例示的な実施形態を本明細書に記載する。「血液脳関門」または「ＢＢＢ」は、末梢循環及び脳、ならびに脳毛細血管内皮細胞原形質膜内の密接な結合によって結成される脊髄（すなわち、ＣＮＳ）の間の生理学的なバリアを意味し、尿素のような非常に低分子（６０ダルトン）でも分子の脳への輸送を制限する厳格なバリアを造る。脳内の血液－脳関門バリア、脊髄内の血液－脊髄バリア及び網膜内の血液－網膜バリアはＣＮＳ内の隣接する毛管バリアであり、本明細書では集合的に血液－脳関門またはＢＢＢと称する。ＢＢＢは、バリアが毛細管内皮細胞よりもむしろ脳室上衣細胞から構成される血液ＣＳＦバリア（脈絡叢）も包含する。
【００６１】
本明細書で交互に使用する「アミロイドベータ（ａｍｙｌｏｉｄ　ｂｅｔａ）」、「ベータアミロイド（ｂｅｔａ－ａｍｙｌｏｉｄ）」、「Ａｂｅｔａ」及び「ａｍｙｌｏｉｄβ」及び「Ａβ」という用語は、アミロイド前駆体蛋白質（「ＡＰＰ」）の　β－セクレターゼ１（「ＢＡＣＥ１」）開裂と同時に生成されるＡＰＰの断片ならびに、限定はされないが、Ａβ１－４０とＡβ１－４２を含む、それらの修飾、断片及び任意な機能的な等価物を意味する。Ａβは、単量体形で存在すること、ならびに結合してオリゴマー及び原繊維構造を形成するこが知られており、アミロイド斑の構成メンバーとみなすことができる。Ａβペプチドの構造及び配列は当業者には周知であり、前記ペプチドの製造または脳及び他の組織からＡβペプチドを抽出する方法は、例えばＧｌｅｎｎｅｒ　ａｎｄ　Ｗｏｎｇ，Ｂｉｏｃｈｅｍ　Ｂｉｏｐｈｙｓ　Ｒｅｓ．Ｃｏｍｍ．１２９：　８８５－８９０（１９８４）に記載されている。更に、Ａβペプチドは様々な形態で市販もされている。
【００６２】
「抗Ａｂｅｔａイムノグロブリン」「抗Ａｂｅｔａ抗体」及び「Ａｂｅｔａに結合する抗体」は本明細書で交互に使用され、具体的にはヒトＡｂｅｔａに結合する抗体を意味する。抗Ａｂｅｔａ抗体の非限定例としてはクレネズマブ（Ｃｒｅｎｅｚｕｍａｂ）である。抗Ａｂｅｔａ抗体の他の非限定例は、ソラネズマブ、バピネオズマブ、ガンテネルマブ、アデュカヌマブ、ポネズマブ、及び以下の刊行物、国際公開第２０００１６２８０１号、国際公開第２００２０４６２３７号、国際公開第２００２００３９１１号、国際公開第２００３０１６４６６号、国際公開第２００３０１６４６７号、国際公開第２００３０７７８５８号、国際公開第２００４０２９６２９号、国際公開第２００４０３２８６８号、国際公開第２００４０３２８６８号、国際公開第２００４１０８８９５号、国際公開第２００５０２８５１１号、国際公開第２００６０３９４７０号、国際公開第２００６０３６２９１号、国際公開第２００６０６６０８９号、国際公開第２００６０６６１７１号、国際公開第２００６０６６０４９号、国際公開第２００６０９５０４１号、国際公開第２００９０２７１０５号で開示される任意の抗Ａｂｅｔａ抗体である。
【００６３】
「クレネズマブ」及び「ＭＡＢＴ５１０２Ａ」は本明細書で交互に使用され、Ａｂｅｔａの単量体、オリゴマー及び原線維型に結合する特異的抗Ａｂｅｔａ抗体を意味し、関連するＣＡＳ登録番号は１０９５２０７である。
【００６４】
「アポリポ蛋白質Ｅ４キャリア」または「ＡｐｏＥ４キャリア」は、「アポリポ蛋白質

Ｅ４ポジチブ」または「ＡｐｏＥ４ポジチブ」と共に本明細書で交互に使用され、少なくとも１つのアポリポ蛋白質Ｅ４（または「アポＥ４」）対立遺伝子を有する個体を意味する。ｚｅｒｏ　ＡｐｏＥ４　対立遺伝子をもつ個体は「ＡｐｏＥ４ネガチブ」または「ＡｐｏＥ４ノンキャリア」を意味する。Ｐｒｅｋｕｍａｒ，ｅｔ　ａｌ．，１９９６，Ａｍ．Ｊ　Ｐａｔｈｏｌ．１４８：２０８３－９５も参照されたい。

【００６５】

「脳血管原性浮腫」という用語は、脳の細胞内または細胞外空間における血管内液または蛋白質の過剰な蓄積を意味する。脳血管原性浮腫は、例えば、限定はされないが、ＦＬＡＩＲ、ＭＲＩを含む脳ＭＲＩによって検出され、無症候性（「無症候性血管原性浮腫」）の場合、または例えば錯乱、目眩、嘔吐及び無気力（「症候性血管原性浮腫」）のなどの神経学的症状と関連する場合がある（Ｓｐｅｒｌｉｎｇ　ｅｔ　ａｌ．Ａｌｚｈｅｉｍｅｒ’ｓ　＆　Ｄｅｍｅｎｔｉａ，７：３６７，２０１１を参照）。

【００６６】

「脳大規模出血」という用語は、直径約１ｃｍ以上の面積の脳の頭蓋内出血または出血を指す。脳大規模出血は、例えば、限定はされないが、Ｔ２＊強調ＧＲＥ　ＭＲＩを含む脳ＭＲＩによって検出され、無症候性（「無症候性大規模出血」）または例えば過渡的若しくは永続的局所運動若しくは感覚障害、運動失調、失語症及び構音障害（「症候性大規模出血」）と関連する場合がある（例えば、Ｃｈａｌｅｌａ　ＪＡ，Ｇｏｍｅｓ　Ｊ．Ｅｘｐｅｒｔ　Ｒｅｖ．Ｎｅｕｒｏｔｈｅｒ．２００４　４：２６７，２００４及びＳｐｅｒｌｉｎｇ　ｅｔ　ａｌ．Ａｌｚｈｅｉｍｅｒ’ｓ　＆　Ｄｅｍｅｎｔｉａ，７：３６７，２０１１を参照）。

【００６７】

「脳微小出血」という用語は、直径約１ｃｍ未満の面積の脳の頭蓋内出血または出血を指す。脳微小出血は、例えば、限定はされないが、Ｔ２＊強調ＧＲＥ　ＭＲＩを含む脳ＭＲＩによって検出され、無症候性（「無症候性微小出血」）または例えば過渡的若しくは永続的局所運動若しくは感覚障害、運動失調、失語症及び構音障害（「症候性微小出血」）と関連する場合がある。例えば、Ｇｒｅｅｎｂｅｒｇ，ｅｔ　ａｌ．，２００９，Ｌａｎｃｅｔ　Ｎｅｕｒｏｌ．８：１６５－７４を参照されたい。

【００６８】

「脳溝の滲出」という用語は、脳のしわまたは溝での流体の浸出を意味する。脳溝の滲出は、例えば、限定はされないが、ＦＬＡＩＲ　ＭＲＩによって検出される。Ｓｐｅｒｌｉｎｇ　ｅｔ　ａｌ．Ａｌｚｈｅｉｍｅｒ’ｓ　＆　Ｄｅｍｅｎｔｉａ，７：３６７，２０１１を参照されたい。

【００６９】

「脳表ヘモジデリン沈着症（ｓｕｐｅｒｆｉｃｉａｌ　ｓｉｄｅｒｏｓｉｓ　ｏｆ　ｔｈｅ　ｃｅｎｔｒａｌ　ｎｅｒｖｏｕｓ　ｓｙｓｔｅｍ）」という用語は、脳のくも膜下腔への出血若しくは大出血を指し、例えば、限定はされないが、Ｔ２＊強調ＧＲＥ　ＭＲＩを含む脳ＭＲＩによって検出される。脳表ヘモジデリン沈着症を示す症状としては、感音難聴、小脳性運動失調症及び錐体路兆候が挙げられる。Ｋｕｍａｒａ－Ｎ，Ａｍ　Ｊ　Ｎｅｕｒｏｒａｄｉｏｌ．３１：５，２０１０を参照されたい。

【００７０】

本明細書で使用されるとき、「アミロイドーシス」という用語は、アミロイド若しくはアミロイド様蛋白質に起因または関連する病気及び疾患群を指し、限定はされないが、単量体、原線維若しくは高分子状態あるいはアミロイド斑を含む該３種の任意の組み合わせでのアミロイド様蛋白質の存在または活性に起因する病気及び傷害が挙げられる。かかる疾患としては、続発性アミロイドーシス及び加齢関連アミロイド症、例えば、限定はされないが、アルツハイマー病（「ＡＤ」などの神経学的障害、認識記憶能力の損失で特徴付けられる疾患または症状（例えば、軽度認知障害（ＭＣＩ）、レヴィー小体認知症、ダウン症、遺伝性アミロイド性脳出血（オランダ型）、グアムパーキンソン痴呆複合及びアミロイド様蛋白質に基づく、または関連する他の疾患（進行性核上まひ、多発性硬化症、ク

ロイツフェルトヤコブ病、パーキンソン病、ＨＩＶ関連認知症、ＡＬＳ（筋萎縮性側索硬化症）、封入体筋炎（ＩＢＭ）、成人発症糖尿病、内分泌腫瘍及び老人性心アミロイド症）、及び黄斑変性症、ドルーセン関連視神経症、緑内障、ベータアミロイド沈着に起因する白内障を含む様々な眼疾患を含めた疾患などが挙げられるが、これらに限定されない。

【００７１】

緑内障は、視覚ニューロパチーの特徴的パターンでの網膜神経節細胞（ＲＧＣ）の損失を含む一群の視神経疾患である。ＲＧＣは、眼から脳まで視覚信号を送る神経細胞である。アポトーシス過程の２つの主要な酵素、カスパーゼ－３及びカスパーゼ－８はＲＧＣのアポトーシスに至る過程で活性化される。カスパーゼ－３は、アミロイド前駆体蛋白質（ＡＰＰ）を開裂し、Ａｂｅｔａを含む神経毒フラグメントを産生する。ＡＰＰの保護作用がないと、網膜神経節細胞層でのＡｂｅｔａ蓄積がＲＧＣの死及び不可逆的失明をもたらす。

【００７２】

緑内障は、常にではないがしばしば、水の循環またはその排水路の遮断の結果とすることができる眼圧の増加に付随して起こる。眼圧上昇は緑内障の発達の重要なリスク要因であるが、緑内障の発症に決定的であるとする眼圧の閾値は、定義することができない。また、障害は、不可欠な視神経線維への乏しい血液供給、神経構造の弱さ、及び／または神経繊維自体の健康の問題に起因する場合もある。無処置の緑内障は視神経の永久的な損傷をもたらし、結果として盲目に進行する視野損失が生じる。

【００７３】

「軽度アルツハイマー病」または「軽度ＡＤ」という用語は、本明細書（例えば「軽度ＡＤと診断された患者」）で使用されるとき、２０～２６のＭＭＳＥスコアによって特徴付けられるＡＤのステージを意味する。

【００７４】

本明細書で使用されるとき、「軽度～中度アルツハイマー病」または「軽度～中度ＡＤ」という用語は軽度及び中度ＡＤの両方の包含し、１８～２６のＭＭＳＥスコアで特徴付けられる。

【００７５】

「中度アルツハイマー病」または「中度ＡＤ」という用語は、本明細書（例えば「中度ＡＤと診断された患者」）で使用されるとき、１８～１９のＭＭＳＥスコアによって特徴付けられるＡＤのステージを意味する。

【００７６】

「中枢神経系」または「ＣＮＳ」は、身体機能を制御する神経組織の複合体を指し、脳及び脊髄が含まれる。

【００７７】

「血液脳関門受容体」（本明細書で「ＢＢＢ－Ｒ」と略す）は、血液脳関門を横断して分子を輸送することができる脳内皮細胞上で発現する膜横断受容器蛋白質である。ＢＢＢ－Ｒの例としては、限定はされないが、トランスフェリン受容体（ＴｆＲ）、インシュリン受容体、インスリン様増殖因子受容体（ＩＧＦ－Ｒ）、低密度リポ蛋白質受容体関連蛋白質１（ＬＲＰ１）及び低密度リポ蛋白質受容体関連蛋白質８（ＬＲＰ８）、に限定されない低密度リポ蛋白質受容体、ブドウ糖輸送担体１（Ｇｌｕｔ１）及びヘパリン結合上皮増殖因子様成長因子（ＨＢ－ＥＧＦ）が挙げられる。本明細書での例示的なＢＢＢ－Ｒはトランスフェリン受容体（ＴｆＲ）である。

【００７８】

本明細書で使用されるとき、「トランスフェリン受容体」または「ＴｆＲ」という用語は、特に明記しない限り、霊長類（例えば、ヒト）及び齧歯動物（例えば、マウス及びラット）などの哺乳類を含む任意の脊椎動物源由来のあらゆる天然ＴｆＲを意味する。「完全長」という用語は、未処理ＴｆＲならびに細胞での処理から生じるＴｆＲの任意の形態を包含する。また、該用語はＴｆＲの天然に存在する変異体（例えば、スプライスバリアントまたは対立形質の変異体）も含む。ＴｆＲは、脊椎動物での鉄の取込に関与する２つ

のジスルフィド結合サブユニット（個々の見掛けの分子量が約９０，０００）から構成される膜貫通糖蛋白質（分子量が約１８００００）である。いくつかの実施形態において、本明細書でのＴｆＲは、Ｓｃｈｎｅｉｄｅｒ　ｅｔ　ａｌ．Ｎａｔｕｒｅ　３１１：　６７５　－　６７８（１９８４）で記載されたアミノ酸配列、例えば（配列番号　１）を含むヒトＴｆＲ（「ｈＴｆＲ」）である。いくつかの実施形態において、本明細書でのＴｆＲは、Ｇｅｎｂａｎｋ参考文献ＡＦＤ１８２６０．１に記載されたアミノ酸配列（配列番号２）を含む霊長類ＴｆＲ（「ｐＴｆＲ」）である。対照用に、マウスＴｆＲ配列はＧｅｎｂａｎｋ参考文献ＡＡＨ５４５２２．１（配列番号３）に見出すことができる。

【００７９】

本明細書で使用されるとき、「神経障害」は、ＣＮＳに影響を及ぼす、及び／またはＣＮＳに病因を有している疾患または障害を意味する。例示的な　ＣＮＳ疾患または障害としては、限定はされないが、ニューロパチー、アミロイドーシス、癌、眼性病気または障害、ウイルス性または微生物感染、炎症、局所貧血、神経変性疾患、発作、行動障害及びリソソーム蓄積症が挙げられる。この応用の目的の場合、ＣＮＳが、血液網膜関門によって体の他の部位から分離される眼を含むことは理解されよう。神経障害の具体的な例としては、限定はされないが、神経変性疾患（限定はされないが、レヴィー小体病、ポリオ後症候群、シャイ・ドレーガー症候群、オリーブ橋小脳萎縮、パーキンソン病、多系統萎縮症、線条体黒質変性症、タウオパチー（限定されないが、アルツハイマー病及び核上性麻痺が含まれる）、プリオン病（限定されないが、牛海綿状脳症、スクラピー、クロイツフェルトーヤコブ症候群、クールー、ゲルストマン・ストロイスラー・シャインカー病、慢性消耗症、及び死性家族性不眠症が含まれる）、延髄麻痺、運動ニューロン疾患、及び神経系ヘテロ変性障害（限定されないが、カナバン病、ハンチントン舞踏病、ニューロンセロイド脂褐素症、アレグザンダー病、トゥレット症候群、メンケス癖毛症候群、コケイン症候群、ハレルフォルデンースパッツ症候群、ラフォラ（Ｌａｆｏｒａ）病、レット症候群、肝レンズ核変性症、レッシューナイハン症候群及びウンフェルリヒト・ルントボルク病が含まれる）、痴呆（限定されないが、ピック病、及び脊髄小脳失調症が含まれる）、癌（例えば、ＣＮＳの癌、身体の他の場所から生じる脳転移）が挙げられる。

【００８０】

「神経障害薬剤」は、１つ以上の神経障害を治療する薬剤または治療薬である。本発明の神経障害薬剤としては、限定はされないが、抗体、ペプチド、蛋白質、１つ以上のＣＮＳ標的（複数）の天然リガンド、１つ以上のＣＮＳ標的（複数）の天然リガンドの修飾変種、アプタマー、阻害的低分子ＲＮＡ（ｓｉＲＮＡ）及び短ヘアピンＲＮＡ（ｓｈＲＮＡ）、リボザイム及び小分子、または前記の任意な活性フラグメントが挙げられる。本発明の例示的な神経障害薬剤は、本明細書に記載しており、抗体、アプタマー、蛋白質、ペプチド、抑制性核酸、ＣＮＳ抗原または標的分子（例えば、限定されないが、アミロイド前駆体蛋白質またはそれらの一部、アミロイドベータ、ベーターセクレターゼ、ガンマーセクレターゼ、タウ、アルファーシヌクレイン、パーキン、ハンチンチン、ＤＲ６、プレセニリン、ＡｐｏＥ、神経膠腫または他のＣＮＳ腫瘍マーカー、及びニューロトロフィン）自身であるか、または具体的に認識するか及び／または作用（すなわち、阻害、活性化または検出）する前記の任意な低分子及び活性フラグメントが挙げられるが、これらに限定されない。治療に使用することができる神経障害薬剤及び障害の非限定例を以下の表Ａに提供する。

表Ａ：非限定例の神経障害薬剤とそれらを治療に使用することができる対応障害

薬剤	神経障害
抗ＢＡＣＥ１抗体	アルツハイマー急性及び慢性脳損傷、脳卒中
抗Ａｂｅｔａ抗体	アルツハイマー病
抗Ｔａｕ抗体	アルツハイマー病、タウオパシー
ニューロトロフィン	脳卒中、急性脳損傷、脊髄損傷
脳由来神経栄養因子（ＢＤＮＦ）、線維芽細胞成長因子２（ＦＧＦ－２）	慢性脳損傷（神経形成）
抗上皮細胞成長因子受容体（ＥＧＦＲ）抗体	脳腫瘍
グリア細胞由来神経性因子（ＧＤＮＦ）	パーキンソン病
脳由来神経栄養因子（ＢＤＮＦ）	筋萎縮性側索硬化症、抑鬱症
リソソーム酵素	脳のリソソーム蓄積病
毛様体神経栄養因子（ＣＮＴＦ）	筋萎縮性側索硬化症
ニューレグリン－1	統合失調症
抗ＨＥＲ２抗体（例えばトラスツズマブ、ペルツズマブ等）	ＨＥＲ２陽性腫瘍由来の転移性脳腫瘍
抗ＶＥＧＦ抗体（例えばベバシズマブ）	再発性または新しく診断された神経膠腫、再発性悪性神経膠腫、脳転移

【００８１】

「造影剤」は、存在及び／場所が直接的若しくは間接的に検出されることを可能にする１つ以上の特性を有する化合物である。かかる造影剤の例としては、検出を可能にする標識部分を取り込んでいる蛋白質及び小分子化合物が挙げられる。

【００８２】

「ＣＮＳ抗原」または「脳抗原」は、抗体または小分子によって標識化され得る、脳を含むＣＮＳで発現する抗原である。かかる抗原の例としては、限定はされないが、ベーターセクレターゼ１（ＢＡＣＥ１）、アミロイドベータ（Ａｂｅｔａ）、上皮成長因子受容体（ＥＧＦＲ）、ヒト上皮成長因子受容体２（ＨＥＲ２）、タウ、アポリポタンパク質Ｅ４（ＡｐｏＥ４）、アルファーシヌクレイン、ＣＤ２０、ハンチンチン、プリオン蛋白質（ＰｒＰ）、ロイシンリッチリピートキナーゼ２（ＬＲＲＫ２）、パーキン、プレセニリン１、プレセニリン２、ガンマセクレターゼ、細胞死受容体６（ＤＲ６）、アミロイド前駆体蛋白質（ＡＰＰ）、ｐ７５ニューロトロフィン受容体（ｐ７５ＮＴＲ）、インターロイキン６受容体（ＩＬ６Ｒ）、ＴＮＦ受容体１（ＴＮＦＲ１）、インターロイキン１ベータ（ＩＬ１β）およびカスパーゼ６が挙げられる。いくつかの実施形態において、抗原はＢＡＣＥ１である。

【００８３】

本明細書で使用されるとき、「ＢＡＣＥ１」という用語は、特に明記しない限り、霊長類（例えば、ヒト）及び齧歯類（例えば、マウス及びラット）等の哺乳類を含め、任意の脊椎動物源由来のあらゆる天然ベーターセクレターゼ１（β部位アミロイド前駆体蛋白質開裂酵素１、膜関連アスパラギン酸プロテアーゼ２、メマプシン２、アスパルチルプロテアーゼ２またはＡｓｐ２とも呼ばれる）を意味する。該用語は、未処理ＢＡＣＥ１「完全

長」ならびに細胞での処理から生じる任意形状のＢＡＣＥ１を包含する。また、該用語はＢＡＣＥ１の自然発生的な変異体、例えばスプライスバリアントまたは対立遺伝子変異型も包含する。例示的ＢＡＣＥ１ポリペプチドのアミノ酸配列は以下の配列番号１４７で示され、参照によりその全体が本明細書に援用されるＶａｓｓａｒ　ｅｔ　ａｌ．，Ｓｃｉｅｎｃｅ　２８６：７３５－７４１（１９９９）で報告されたヒトＢＡＣＥ１、アイソフォームＡの配列である。

ＭＡＱＡＬＰＷＬＬＬＷＭＧＡＧＶＬＰＡＨＧＴＱＨＧＩＲＬＰＬＲＳＧＬＧＧＡＰＬＧ
ＬＲＬＰＲＥＴＤＥＥＰＥＥＰＧＲＲＧＳＦＶＥＭＶＤＮＬＲＧＫＳＧＱＧＹＹＶＥＭＴ
ＶＧＳＰＰＱＴＬＮＩＬＶＤＴＧＳＳＮＦＡＶＧＡＡＰＨＰＦＬＨＲＹＹＱＲＱＬＳＳＴ
ＹＲＤＬＲＫＧＶＹＶＰＹＴＱＧＫＷＥＧＥＬＧＴＤＬＶＳＩＰＨＧＰＮＶＴＶＲＡＮＩ
ＡＡＩＴＥＳＤＫＦＦＩＮＧＳＮＷＥＧＩＬＧＬＡＹＡＥＩＡＲＰＤＤＳＬＥＰＦＦＤＳ
ＬＶＫＱＴＨＶＰＮＬＦＳＬＱＬＣＧＡＧＦＰＬＮＱＳＥＶＬＡＳＶＧＧＳＭＩＩＧＧＩ
ＤＨＳＬＹＴＧＳＬＷＹＴＰＩＲＲＥＷＹＹＥＶＩＩＶＲＶＥＩＮＧＱＤＬＫＭＤＣＫＥ
ＹＮＹＤＫＳＩＶＤＳＧＴＴＮＬＲＬＰＫＫＶＦＥＡＡＶＫＳＩＫＡＡＳＳＴＥＫＦＰＤ
ＧＦＷＬＧＥＱＬＶＣＷＱＡＧＴＴＰＷＮＩＦＰＶＩＳＬＹＬＭＧＥＶＴＮＱＳＦＲＩＴ
ＩＬＰＱＱＹＬＲＰＶＥＤＶＡＴＳＱＤＤＣＹＫＦＡＩＳＱＳＳＴＧＴＶＭＧＡＶＩＭＥ
ＧＦＹＶＶＦＤＲＡＲＫＲＩＧＦＡＶＳＡＣＨＶＨＤＥＦＲＴＡＡＶＥＧＰＦＶＴＬＤＭ
ＥＤＣＧＹＮＩＰＱＴＤＥＳＴＬＭＴＩＡＹＶＭＡＡＩＣＡＬＦＭＬＰＬＣＬＭＶＣＱＷ
ＣＣＬＲＣＬＲＱＱＨＤＤＦＡＤＤＩＳＬＬＫ（配列番号１４７）

【００８４】

ヒトＢＡＣＥ１の幾つかの他のアイソフォームは、アイソフォームＢ，Ｃ及びＤを含めて存在する。参照によりその全体が本明細書に組み込まれるＵｎｉＰｒｏｔＫＢ／Ｓｗｉｓｓ－Ｐｒｏｔ　Ｅｎｔｒｙ　Ｐ５６８１７を参照されたい。アイソフォームＢは、配列番号１４８で示され、アミノ酸１９０－２１４（すなわち、配列番号１４７のアミノ酸１９０－２１４の欠失）が無い点でアイソフォームＡ（配列番号１４７）と異なる。アイソフォームＣは、配列番号１４９で示され、アミノ酸１４６－１８９（すなわち、配列番号１４７のアミノ酸１４６－１８９の欠失）が無い点でアイソフォームＡ（配列番号１４７）と異なる。アイソフォームＤは、配列番号１５０で示され、アミノ酸１４６－１８９及び１９０－２１４（すなわち、配列番号１４７のアミノ酸１４６－１８９及び１９０－２１４の欠失）が無い点でアイソフォームＡ（配列番号１４７）と異なる。

【００８５】

「抗ベーターセクレターゼ抗体」、「抗ＢＡＣＥ１抗体」、「ベーターセクレターゼに結合する抗体」及び「ＢＡＣＥ１に結合する抗体」は、例えば抗体がＢＡＣＥ１標的の診断用薬及び／または治療薬として役に立つ十分な親和性をもってＢＡＣＥ１に結合することが可能な抗体を意味する。いくつかの実施形態において、抗ＢＡＣＥ１抗体の、無関係な非ＢＡＣＥ１蛋白質に結合する度合は、例えば、ラジオイムノアッセイ（ＲＩＡ）によって測定したとき、ＢＡＣＥ１への抗体の結合の約１０％未満である。特定の実施形態において、ＢＡＣＥ１に結合する抗体は解離定数（Ｋｄ）≦１μＭ、≦１００ｎＭ、≦１０ｎＭ、≦１ｎＭ、≦０．１ｎＭ、≦０．０１ｎＭ，または≦０．００１ｎＭ（例えば、10^{-8} Ｍ以下、例えば10^{-8}Ｍ～10^{-13} Ｍ、例えば10^{-9}Ｍ～10^{-13}Ｍ）を有する。特定の実施形態において、抗ＢＡＣＥ１抗体は、異なる種及びアイソフォーム由来のＢＡＣＥ１の間で保存されているＢＡＣＥ１のエピトープに結合する。

【００８６】

いくつかの実施形態において、抗ＢＡＣＥ１抗体ＹＷ４１２．８．３１が結合したＢＡＣＥ１上のエピトープに結合する抗体を提供する。他の実施形態において、ＢＡＣＥ１の触媒ドメインに位置するＢＡＣＥ１内の非活性部位に結合する抗体を提供する。いくつかの実施形態において、ＢＡＣＥ１への結合に関して、参照によりその全体が本明細書に援用されるＫｏｒｎａｃｋｅｒ　ｅｔ　ａｌ．，Ｂｉｏｃｈｅｍ．４４：１１５６７－１１５７３（２００５）で特定されたペプチド（すなわち、ペプチド１、２、３、１－１１、１－１０、１－９、１－８、１－７、１－６、２－１２、３－１２、４－１２、５－１２

、６－１２、７－１２、８－１２、９－１２、１０－１２、４、５、６、５－１０、５－９、暗号化、Ｙ５Ａ，Ｐ６Ａ，Ｙ７Ａ，Ｆ８Ａ，Ｉ９Ａ，Ｐ１０Ａ及びＬ１１Ａ）と競合する抗体を提供する。例示ＢＡＣＥ１抗体配列を図２３～２６、３８、及び３９に表す。本明細書での１つの例示的抗体はＹＷ４１２．８．３１（例えば、図１５Ａ－Ｂ）の可変ドメインを含む。

【００８７】

本明細書での「天然配列」蛋白質は、蛋白質の自然発生的な変異体を含め、天然に発見された蛋白質のアミノ酸配列を含む蛋白質を意味する。本明細書で使用されるとき、該用語は、それらの天然源から単離した蛋白質または遺伝子組み替えにより作成した蛋白質を含む。

【００８８】

本明細書での「抗体」という用語は、広義で使用され、限定はされないが、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、多重特異性抗体（例えば、二重特異性抗体）、及び所望の抗原結合活性を示すほど長い抗体フラグメントを含む様々な抗体構造を包含する。

【００８９】

「抗体フラグメント」は、無傷抗体が結合する抗原に結合する、無傷抗体の一部を含む無傷抗体以外の分子を指す。抗体フラグメントの例は、当該技術分野では周知（例えばＮｅｌｓｏｎ，ＭＡｂｓ（２０１０）２（１）：　７７－８３を参照）であり、Ｆａｂ、Ｆａｂ’、Ｆａｂ’－ＳＨ、Ｆ（ａｂ’）$_2$、及びＦｖ；二重抗体、直鎖抗体、限定されないが単鎖可変フラグメント（ｓｃＦｖ）を含む単鎖抗体分子、リンカーとの融合がある場合とない場合（及び任意選択でタンデムにした）の軽鎖及び／または重鎖抗原結合ドメイン；抗体フラグメントから形成した単一特異的または多特異的抗原結合分子（限定されないが、Ｆｃ領域を欠く　複数の可変ドメインから構築した多重特異性抗体が含まれる）が挙げられるが、これらに限定されない。

【００９０】

本明細書で使用されるとき、「モノクローナル抗体」という用語は、自然発生突然変異またはモノクローナル抗体の生産の間に生じ得る予想される変異体（例えば、通常少量で存在する変異体）を除き、実質的に均一抗体の集団（すなわち、集団を含む個々の抗体が同一及び／または同じエピトープに結合する）から得られた抗体を意味する。一般的に異なる決定基（エピトープ）を目指す異なる抗体を含むポリクローナル抗体調製と対照的に、モノクローナル抗体調製の各モノクローナル抗体は抗原上の単一決定基を目指す。「モノクローナル」という修飾語は、実質的に同種の抗体の集団から得られるという抗体の特徴を示すものであり、任意な特定の方法による抗体の産生を必要とすると解釈されるものではない。例えば、本発明に従って使用されるモノクローナル抗体は、限定はされないが、ハイブリドーマ法（例えば、Ｋｏｈｌｅｒ　ｅｔ　ａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ，２５６：４９５（１９７５）を参照）、組み換え型ＤＮＡ法（例えば、米国特許第　４，８１６，５６７号を参照）、ファージディスプレイ法（例えば、Ｃｌａｃｋｓｏｎ　ｅｔ　ａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ，３５２：６２４－６２８（１９９１）及び　Ｍａｒｋｓ　ｅｔ　ａｌ．，Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．，２２２：５８１－５９７（１９９１）に記載された技術を使用）及び、ヒト免疫グロブリン遺伝子座の全部または一部を含むトランスジェニック動物を利用する方法、本明細書に記載されているモノクローナル抗体を作製する前記方法及び他の例示的方法を含む様々な技術によって作ることができる。本明細書でのモノクローナル抗体の具体例として、キメラ抗体、ヒト化抗体及びそれらの抗原結合性フラグメントを含むヒト抗体を挙げることができる。

【００９１】

本明細書でのモノクローナル抗体は、具体的には、重鎖及び／または軽鎖の一部が特定種に由来する抗体または特別な抗体クラス若しくはサブクラスに属する抗体での対応配列と同一または相同だが一方、鎖の残部が他種に由来する抗体または　別の抗体クラス若しくはサブクラスに属する抗体での対応配列と同一または相同であり、ならびに前記の抗体の断片が所望の生物活性を示す程度に長い「キメラ」抗体（イムノグロブリン）を含む（

米国特許第４，８１６，５６７号；Ｍｏｒｒｉｓｏｎ ｅｔ ａｌ．，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ，８１：６８５１－６８５５（１９８４））。

【００９２】

本明細書での目的の場合、「アクセプターヒトフレームワーク」は、下に記載されるように、ヒト免役グロブリンフレームワークまたはヒトコンセンサスフレームワークに由来する、軽鎖可変ドメイン（ＶＬ）フレームワークまたは重鎖可変ドメイン（ＶＨ）フレームワークのアミノ酸配列を含むフレームワークである。ヒト免役グロブリンフレームワークまたはヒトコンセンサスフレームワーク「に由来する」アクセプターヒトフレームワークは、その同じアミノ酸配列を含んでもよく、またはアミノ酸配列変化を含んでもよい。いくつかの実施形態において、アミノ酸変化の数は、１０以下、９以下、８以下、７以下、６以下、５以下、４以下、３以下、または２以下である。いくつかの実施形態において、ＶＬアクセプターヒトフレームワークは、ＶＬヒト免役グロブリンフレームワーク配列またはヒトコンセンサスフレームワーク配列と配列が同一である。

【００９３】

「ヒトコンセンサスフレームワーク」は、ヒト免役グロブリンＶＬまたはＶＨフレームワーク配列の選択において最も一般的に生じるアミノ酸残基を表すフレームワークである。一般に、ヒト免役グロブリンＶＬまたはＶＨ配列の選択は、可変ドメイン配列のサブグループから行われる。一般に、配列のサブグループはＫａｂａｔ ｅｔ ａｌ．，Ｓｅｑｕｅｎｃｅｓ ｏｆ Ｐｒｏｔｅｉｎｓ ｏｆ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｉｃａｌ Ｉｎｔｅｒｅｓｔ，Ｆｉｆｔｈ Ｅｄｉｔｉｏｎ，ＮＩＨ Ｐｕｂｌｉｃａｔｉｏｎ ９１－３２４２，Ｂｅｔｈｅｓｄａ ＭＤ（１９９１），ｖｏｌｓ．１－３にあるようなサブグループである。いくつかの実施形態において、ＶＬに関してはサブグループがＫａｂａｔ ｅｔ ａｌ．，ｓｕｐｒａにあるようなサブグループｋａｐｐａ Ｉ である。いくつかの実施形態において、ＶＨに関してはサブグループがＫａｂａｔ ｅｔ ａｌ．，ｓｕｐｒａにあるようなサブグループＩＩＩ である。

【００９４】

非ヒト（マウス）抗体の「ヒト化」形態は、非ヒト抗体に由来する最小配列を含むキメラ抗体である。殆どの場合、ヒト化抗体は、レシピエントの超可変領域の残基が、例えば、所望の特異性、親和性及び能力を有するマウス、ラット、ウサギまたは非ヒト霊長類のような非ヒト種（ドナー抗体）の超可変領域の残基によって置き換えられるヒト抗体（レシピエント抗体）である。例えば、ある特定の実施形態において、ヒト化抗体は、全部または実質的に全部のＨＶＲ（例えば、ＣＤＲ）が非ヒト抗体のＨＶＲに対応し、ならびに全部または実質的に全部のフレームワーク領域（ＦＲ）がヒト抗体のレームワーク領域（ＦＲ）に対応する、少なくとも１つ、一般的には２つの可変ドメインの全部を実質的に含むであろう。いくつかの例では、ヒト免疫グロブリンのＦＲ残基が対応する非ヒト残基に置き換えられる。更に、ヒト化抗体は、レシピエント抗体またはドナー抗体には見られない残基を含んでもよい。これらの修飾を行って、抗体の性能を更に改良してもよい。ある特定の実施形態において、ヒト化抗体は、全部または実質的に全部の超可変領域が非ヒト抗体の超可変領域と一致し、全部または実質的に全部のＦＲが、上記のＦＲ置換を除いてヒト抗体の超可変領域である、少なくとも１つ、一般的には２つの可変ドメインの全部を実質的に含むであろう。また、ヒト化抗体は、任意選択で、少なくとも一部の抗体定常領域、一般的にヒト抗体の定常領域も含むであろう。抗体、例えば非ヒト抗体の、「ヒト化型」は、ヒト化を経た抗体を指す。さらなる詳細については、Ｊｏｎｅｓ ｅｔ ａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ ３２１：５２２－５２５（１９８６）；Ｒｉｅｃｈｍａｎｎ ｅｔ ａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ ３３２：３２３－３２９（１９８８）；及びＰｒｅｓｔａ，Ｃｕｒｒ．Ｏｐ．Ｓｔｒｕｃｔ．Ｂｉｏｌ．２：５９３－５９６（１９９２）を参照されたい。

【００９５】

本明細書での「ヒト抗体」は、ヒトまたはヒト細胞によって作製された抗体、あるいはヒト抗体のレパートリーまたは他のヒト抗体コード化配列を利用した非ヒト源に由来する抗体のアミノ酸配列構造と一致するアミノ酸配列構造を含む抗体である。ヒト抗体のこの

定義は、具体的には、非ヒト抗原結合残基を含むヒト化抗体を除外する。かかる抗体は、限定はされないが、内因性免疫グロブリン産生の不在下で免疫化と同時にヒト抗体を産生することができるトランスジェニック動物（例えば、マウス）による産生（例えば、Ｊａｋｏｂｏｖｉｔｓ ｅｔ ａｌ．，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ，９０：２５５１（１９９３）；Ｊａｋｏｂｏｖｉｔｓ ｅｔ ａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ，３６２：２５５－２５８（１９９３）；Ｂｒｕｇｇｅｒｍａｎｎ ｅｔ ａｌ．，Ｙｅａｒ ｉｎ Ｉｍｍｕｎｏ．，７：３３（１９９３）；及び米国特許第５，５９１，６６９号、５，５８９，３６９号及び５，５４５，８０７号を参照）；ヒト抗体またはヒト抗体フラグメントを発現するファージディスプレイライブラリーからの選別（例えば、ＭｃＣａｆｆｅｒｔｙ ｅｔ ａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ ３４８：５５２－５５３（１９９０）；Ｊｏｈｎｓｏｎ ｅｔ ａｌ．，Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｏｐｉｎｉｏｎ ｉｎ Ｓｔｒｕｃｔｕｒａｌ Ｂｉｏｌｏｇｙ ３：５６４－５７１（１９９３）；Ｃｌａｃｋｓｏｎ ｅｔ ａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ，３５２：６２４－６２８（１９９１）；Ｍａｒｋｓ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．２２２：５８１－５９７（１９９１）；Ｇｒｉｆｆｉｔｈ ｅｔ ａｌ．，ＥＭＢＯ Ｊ．１２：７２５－７３４（１９９３）；米国特許第５，５６５，３３２号及び５，５７３，９０５号を参照）；インビトロ活性化Ｂ細胞を介した作製（米国特許第５，５６７，６１０号及び５，２２９，２７５号を参照）；及びヒト抗体産生性ハイブリドーマからの単離を含め、様々な技術によって同定または作製することができる。

【００９６】

「多重特異性抗体」という用語は、広義で使用され、具体的にはポリエピトープ特異性（すなわち、１つの生体分子上の２つまたはそれ以上の異なるエピトープに特異的に結合することが可能、あるいは、２つまたはそれ以上の異なる生体分子上のエピトープに特異的に結合することが可能である）を有する抗原結合ドメインを含む抗体をカバーする。いくつかの実施形態において、多重特異性抗体（例えば二重特異性抗体）の抗原結合ドメインは２つのＶＨ／ＶＬユニットを含み、第１のＶＨ／ＶＬユニットが第１のエピトープに特異的に結合し、第２のＶＨ／ＶＬユニットが第２のエピトープに特異的に結合し、各ＶＨ／ＶＬユニットは重鎖可変ドメイン（ＶＨ）と軽鎖可変ドメイン（ＶＬ）を含む。例示的な多重特異性抗体はＴｆＲ及び脳抗原の両方と結合することができる。いくつかの実施形態において、多重特異性抗体は、ＴｆＲ及びＢＡＣＥ１（「抗ＴｆＲ／ＢＡＣＥ１抗体」）と結合する。かかる多重特異性抗体としては、完全長抗体、２つまたはそれ以上のＶＬ及びＶＨドメインを有する抗体、抗体フラグメント（例えばＦａｂ、Ｆｖ、ｄｓＦｖ、ｓｃＦｖ、ディアボディ、二重特異性ディアボディ及びトリアボディ）、共有結合または非共有結合で結合された抗体フラグメントが挙げられるが、これらに限定されない。また、少なくとも一部の重鎖可変領域及び／または少なくとも一部の軽鎖可変領域を更に含むＶＨ／ＶＬユニットは、「アーム（ａｒｍ）」または「ヘミマー（ｈｅｍｉｍｅｒ）」または「半抗体（ｈａｌｆ ａｎｔｉｂｏｄｙ）」とも呼ばれる。いくつかの実施形態において、ヘミマーは、分子内ジスルフィド結合が第２のヘミマーによって形成されるのを可能にする十分な重鎖可変領域を含む。いくつかの実施形態では、ヘミマーは、例えば、相補的なホール変異若しくはノブ変異を含む第２のヘミマーまたは半抗体とのヘテロ二量体形成を可能にするような、ノブ変異またはホール変異を含む。ノブ変異及びホール変異は、以下で更に考察する。

【００９７】

「二重特異性抗体」は、１つの生体分子上の２つの異なるエピトープに特異的に結合することが可能、または２つの異なる生体分子上のエピトープに特異的に結合することが可能な抗原結合ドメインを含む多重特異性抗体である。二重特異性抗体は、「二重特異性（ｄｕａｌ ｓｐｅｃｉｆｉｃｉｔｙ）」を有する、または「二重特異的（ｄｕａｌ ｓｐｅｃｉｆｉｃ）」と称してもよい。

【００９８】

本明細書で使用されるとき、「ノブ・イントゥ・ホール（Ｋｎｏｂ－ｉｎｔｏ－Ｈｏｌ

ｅ）」または「ＫｎＨ」技術という用語は、相互作用する接触面において一方のポリペプチドに突起（ノブ）を導入し、他方のポリペプチドに空洞（ホール）を導入することにより、インビトロまたはインビボで２つのポリペプチドを一緒に対合することを誘導する技術を指す。例えば、ＫｎＨは抗体のＦｃ：Ｆｃ結合接触面、ＣＬ：ＣＨ１接触面またはＶＨ／ＶＬ接触面に導入される（例えば、ＵＳ　２０１１／０２８７００９号，ＵＳ２００７／０１７８５５２号，国際公開第　９６／０２７０１１号，国際公開第　９８／０５０４３１号，及びＺｈｕ　ｅｔ　ａｌ．，１９９７，Ｐｒｏｔｅｉｎ　Ｓｃｉｅｎｃｅ　６：７８１－７８８を参照）。いくつかの実施形態では、ＫｎＨの駆動によって多重特異性抗体の作製の間に２つの異なる重鎖が共に対合する。例えば、Ｆｃ領域内にＫｎＨを有する多重特異性抗体は、各Ｆｃ領域に連結された単一可変ドメインを更に含むことができるか、または同様の若しくは異なる軽鎖可変ドメインと対合する異なる重鎖可変ドメインを更に含むことができる。ＫｎＨ技術はまた、２つの異なる受容体の細胞外ドメインを一緒に対合するか、または異なる標的認識配列を含む任意の他のポリペプチド配列（例えば、アフィボディ、ペプチボディ、及び他のＦｃ融合体を含む）を対合するために使用することができる。

【００９９】

本明細書で使用されるとき、「ノブ変異」という用語は、ポリペプチドが別のポリペプチドと相互作用する接触面において、ポリペプチドに突起（ノブ）を導入する、変異を意味する。いくつかの実施形態では、他方のポリペプチドはホール変異を有する。

【０１００】

本明細書で使用されるとき、「ホール変異」という用語は、ポリペプチドが別のポリペプチドと相互作用する接触面において、ポリペプチドに空洞（ホール）を導入する、変異を意味する。いくつかの実施形態では、他方のポリペプチドはノブ変異を有する。

【０１０１】

本明細書での抗体は、抗原結合性または生物活性が変化した「アミノ酸配列変異体」を含む。かかるアミノ酸変化の例としては、抗原に対する親和性が増加した抗体（例えば、「親和性成熟」抗体）、及びＦｃ領域が変化した抗体、現に存する場合は、例えば抗体依存性細胞介在性細胞傷害（ＡＤＣＣ）及び／または補体依存性細胞傷害（ＣＤＣ）に変異（増加または減少）がある抗体（例えば、国際公開第００／４２０７２号、Ｐｒｅｓｔａ，Ｌ．及び国際公開第９９／５１６４２号、Ｉｄｕｏｓｏｇｉｅ　ｅｔ　ａｌ．を参照）、及び／または血清半減期が増加または減少した抗体（例えば、国際公開第　００／４２０７２号，Ｐｒｅｓｔａ，Ｌ．を参照）を挙げることができる。

【０１０２】

「親和性修飾変異体」は、親和性を変える（増加または減少）、親抗体（例えば、親キメラ、ヒト化またはヒト抗体）の１つ以上の置換された、超可変領域またはフレームワーク残基を有する。かかる置換変異体の簡便な作製方法はファージディスプレイを使用する。簡潔には、幾つかの超可変領域部位（例えば、６－７の部位）を変異させて各部位で全ての可能なアミノ酸置換を発生させる。従って、発生した抗体変異体は、各粒子内に導入されたＭ１３の遺伝子ＩＩＩ産物への融合としてフィラメント状ファージ粒子から１価の形式（ｍｏｎｏｖａｌｅｎｔ　ｆａｓｈｉｏｎ）でディスプレイされる。次いで、ファージディスプレイ法による変異体を生物活性（例えば結合親和性）についてスクリーニングする。修飾のための候補超可変領域部位を同定するために、アラニンスキャニング突然変異誘起を行って抗原結合に有意に寄与する超可変領域残基を特定することができる。別の方法では、又はその上、抗体とその標的の間の接点を同定するために抗原－抗体複合体の結晶構造を解析することは大きな利点があると考えられる。かかる接点残基及び隣接残基が、本明細書で詳細に述べた技術にしたがった置換の候補である。一旦かかる変異体が発生すれば、変異体パネルをスクリーニングにかけて、親和性が変化した抗体を更なる発展のために選抜することができる。

【０１０３】

「ｐＨ感受性抗体変異体」は、異なるｐＨより　最初のｐＨで標的抗原に対して異なる

結合親和性を有する抗体変異体である。非限定例として、本発明の抗ＴｆＲ／ＢＡＣＥ１は、例えばｐＨ７．４で血漿中の細胞表面ＴｆＲに所望通りに低親和性（本明細書に記載されているように）で結合するが、エンドソーム区画の内部移行と同時に比較的低ｐＨ（ｐＨ５．５－６．０）でＴｆＲから急速に解離し、かかる解離は、抗原仲介クリアランスから抗体を保護し、ＣＮＳへ輸送する抗体量またはＢＢＢ　を横断して再循環する抗体量を増加させるようにＴｆＲにｐＨ感受性結合をもつように選別または改変することができる。いずれのケースも、抗体の有効濃度は、かかるｐＨ感受性を含まない抗ＴｆＲ抗体と比較して増加する（例えば、Ｃｈａｐａｒｒｏ－Ｒｉｇｇｅｒｓ　ｅｔ　ａｌ．Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．２８７（１４）：　１１０９０－１１０９７；Ｉｇａｗａ　ｅｔ　ａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ　Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ．２８（１１）：　１２０３－１２０８を参照）。血清ｐＨ及びエンドソーム区画ｐＨにおける親和性の所望の組み合わせは、当業者によってＴｆＲ及び複合体化化合物について容易に決定されし得る。

【０１０４】

本明細書での抗体は「異種分子」と複合体化し、例えば半減期若しくは安定性を増加させたり、それ以外に抗体を改善することができる。例えば、抗体は、様々な非蛋白性重合体、例えば、ポリエチレングリコール（ＰＥＧ）、ポリプロピレングリコール、ポリオキシアルキレン、またはポリエチレングリコールとポリプロピレングリコールの共重合体の１つと結合することができる。１つ以上のＰＥＧ分子に結合したＦａｂ’のような抗体フラグメントは、本発明の例示的な実施形態である。別の例では、異種分子が治療化合物または可視化剤（すなわち、検出可能標識）であり、当該抗体はＢＢＢを横断してかかる異種分子を輸送するのに使用されている。異種分子の例として、化学物質、ペプチド、重合体、脂質、核酸及び蛋白質が挙げられるが、これらに限定されない。

【０１０５】

本明細書での抗体は、例えばＦｃ領域に結合されるあらゆる炭水化物は、現に存する場合、存在／不在下での修飾、または種類での修飾のいずれかの変化を受けるような「グリコシル化変異体」とすることができる。例えば、抗体のＦｃ領域に結合するフコースを欠く成熟した炭水化物構造をもつ抗体は、米国特許出願第２００３／０１５７１０８号（Ｐｒｅｓｔａ，Ｌ．）に記載されている。同第ＵＳ　２００４／００９３６２１号（Ｋｙｏｗａ　Ｈａｋｋｏ　Ｋｏｇｙｏ　Ｃｏ．，Ｌｔｄ）も参照されたい。抗体のＦｃ領域に結合した炭水化物中の二分構造Ｎ－アセチルグルコサミン（ＧｌｃＮＡｃ）を有する構造は、国際公開第　２００３／０１１８７８号，Ｊｅａｎ－Ｍａｉｒｅｔ　ｅｔ　ａｌ．及び米国特許第　６，６０２，６８４号，Ｕｍａｎａ　ｅｔ　ａｌ．で参照される。抗体のＦｃ領域に結合したオリゴ糖に少なくとも１つのガラクトース残基をもつ抗体は、国際公開第　１９９７／３００８７号，Ｐａｔｅｌ　ｅｔ　ａｌ．で報告されている。その抗体のＦｃ領域に結合した炭水化物が変化した抗体に関する国際公開第　１９９８／５８９６４号（Ｒａｊｕ，Ｓ．）及び国際公開第　１９９９／２２７６４号（Ｒａｊｕ，Ｓ．）も参照されたい。修飾されたグリコシル化を伴う抗体を記載した第ＵＳ　２００５／０１２３５４６（Ｕｍａｎａ　ｅｔ　ａｌ．）も参照されたい。Ｆｃ領域におけるグリコシル化共通配列（位置２９７－２９９でＡｓｎ－Ｘ－Ｓｅｒ／Ｔｈｒ、Ｘがプロリンの場合はない）の変異、例えば、この配列のＡｓｎの任意な他のアミノ酸への変異による、または、位置２９８にＰｒｏを配置することによる、あるいは位置２９９をＳｅｒまたはＴｈｒ以外の任意のアミノ酸に改変することによる変異は、その位置でのグリコシル化を排除するはずである（例えば、Ｆａｒｅｓ　Ａｌ－Ｅｊｅｈ　ｅｔ　ａｌ．，Ｃｌｉｎ．Ｃａｎｃｅｒ　Ｒｅｓ．（２００７）１３：５５１９ｓ－５５２７ｓ；Ｉｍｐｅｒｉａｌｉ　ａｎｄ　Ｓｈａｎｎｏｎ，Ｂｉｏｃｈｅｍｉｓｔｒｙ（１９９１）３０（１８）：　４３７４－４３８０；Ｋａｔｓｕｒｉ，Ｂｉｏｃｈｅｍ　Ｊ．（１９９７）３２３（Ｐｔ　２）：　４１５－４１９；Ｓｈａｋｉｎ－Ｅｓｈｌｅｍａｎ　ｅｔ　ａｌ．，Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．（１９９６）２７１：　６３６３－６３６６を参照）。

【０１０６】

本明細書で使用されるとき、「超可変領域」または「ＨＶＲ」という用語は、配列中の

超可変性な抗体可変ドメインの領域（「相補性決定領域」または「ＣＤＲ」）、及び／または構造的に定義されたループ（「超可変ループ」）を形成する領域、及び／または抗原接触残基（「抗原接着」）を含む領域を意味する。一般に、抗体は６つのＨＶＲ、すなわちＶＨ（Ｈ１、Ｈ２、Ｈ３）で３つ及びＶＬ（Ｌ１、Ｌ２、Ｌ３）で３つを含む。本明細書の例示的ＨＶＲとして、
（ａ）アミノ酸残基２６－３２（Ｌ１）、５０－５２（Ｌ２）、９１－９６（Ｌ３）、２６－３２（Ｈ１）、５３－５５（Ｈ２）、及び９６－１０１（Ｈ３）に生じる超可変ループ（Ｃｈｏｔｈｉａ　ａｎｄ　Ｌｅｓｋ，Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．１９６：９０１－９１７（１９８７））、
（ｂ）アミノ酸残基２４－３４（Ｌ１）、５０－５６（Ｌ２）、８９－９７（Ｌ３）、３１－３５ｂ（Ｈ１）、５０－６５（Ｈ２）及び９５－１０２（Ｈ３）に生じるＣＤＲ（Ｋａｂａｔ　ｅｔ　ａｌ．，Ｓｅｑｕｅｎｃｅｓ　ｏｆ　Ｐｒｏｔｅｉｎｓ　ｏｆ　Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｉｃａｌ　Ｉｎｔｅｒｅｓｔ，５ｔｈ　Ｅｄ．Ｐｕｂｌｉｃ　Ｈｅａｌｔｈ　Ｓｅｒｖｉｃｅ，Ｎａｔｉｏｎａｌ　Ｉｎｓｔｉｔｕｔｅｓ　ｏｆ　Ｈｅａｌｔｈ，Ｂｅｔｈｅｓｄａ，ＭＤ（１９９１））、
（ｃ）アミノ酸残基２７ｃ－３６（Ｌ１）、４６－５５（Ｌ２）、８９－９６（Ｌ３）、３０－３５ｂ（Ｈ１）、４７－５８（Ｈ２）および９３－１０１（Ｈ３）に生じる抗原接着（ＭａｃＣａｌｌｕｍ　ｅｔ　ａｌ．Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．２６２：７３２－７４５（１９９６））、及び
（ｄ）ＨＶＲアミノ酸残基４６－５６（Ｌ２）、４７－５６（Ｌ２）、４８－５６（Ｌ２）、４９－５６（Ｌ２）、２６－３５（Ｈ１）、２６－３５ｂ（Ｈ１）、４９－６５（Ｈ２）、９３－１０２（Ｈ３）及び９４－１０２（Ｈ３）を含む（ａ）、（ｂ）、及び／または（ｃ）の組み合わせを挙げることができる。

【０１０７】

いくつかの実施形態において、ＨＶＲ残基は、図３及び４ならびに表３及び４、または明細書の他の部分で特定されたものを含む。

【０１０８】

特に明記しない限り、可変ドメインにおけるＨＶＲ残基及び他の残基（例えば、ＦＲ残基）は本明細書では　Ｋａｂａｔ　ｅｔ　ａｌ．，ｓｕｐｒａ．の従って番号付けされる。

【０１０９】

「フレームワーク」または「ＦＲ」残基は、本明細書で定義する超可変領域残基以外の可変ドメイン残基である。可変ドメインのＦＲは、一般に４つのＦＲドメイン、ＦＲ１、ＦＲ２、ＦＲ３及びＦＲ４からなる。従って、ＨＶＲおよびＦＲ配列は、一般に、ＶＨ（またはＶＬ）において以下の配列：ＦＲ１－Ｈ１（Ｌ１）－ＦＲ２－Ｈ２（Ｌ２）－ＦＲ３－Ｈ３（Ｌ３）－ＦＲ４で現れる。特定の実施形態において、抗体の安定性を調節したり、または例えば、結合を強めるために抗体の１つ以上のＨＶＲの三次元位置決定を調節するように１つ以上のＦＲ残基を修飾することができる。

【０１１０】

「完全長抗体」は、抗原結合性可変領域ならびに軽鎖定常領域（ＣＬ）及び重鎖定常領域、ＣＨ１、ＣＨ２及びＣＨ３を含む１つである。定常領域は、天然配列定常ドメイン（例えばヒト天然配列定常ドメイン）またはそのアミノ酸配列変異体とすることができる。

【０１１１】

「完全長抗体」、「インタクトな抗体」、および「全抗体」という用語は、本明細書で交互に使用され、天然抗体構造と実質的に同様の構造を有する、または本明細書に定義されるＦｃ領域を含む重鎖を有する抗体を意味する。

【０１１２】

「裸（Ｎａｋｅｄ）の抗体」は、非相同部分（例えば、細胞毒性部分または放射標識）と複合体化していない抗体を指す。裸の抗体は製剤に存在してもよい。

【０１１３】

「天然抗体」は、様々な構造をもつ自然発生免役グロブリン分子を指す。例えば、天然ＩｇＧ抗体は、ジスルフィド結合化した２つの同一軽鎖と２つの同一重鎖から構成される、約１５０，０００ダルトンのヘテロ四量体糖タンパク質である。Ｎ末端からＣ末端まで、各重鎖は、３つの定常ドメイン（ＣＨ１、ＣＨ２及びＣＨ３）が続く可変重鎖ドメインまたは重鎖可変ドメインとも呼ばれる可変領域（ＶＨ）を有する。同様に、Ｎ末端からＣ末端まで、各軽鎖は、定常軽（ＣＬ）ドメインが続く可変軽鎖ドメインまたは軽鎖可変ドメインとも呼ばれる可変領域（ＶＬ）を有する。抗体の軽鎖には、定常ドメインのアミノ酸配列に基づいて、カッパ（κ）及びラムダ（λ）と呼ばれる２つの型うちの１つに割り当てることができる。

【０１１４】

抗体「エフェクター機能」は、補体経路の活性化以外の免疫系の活性化をもたらす抗体の生物活性を意味する。前記の活性は、抗体のＦｃ領域（天然配列Ｆｃ領域またはアミノ酸配列変異体Ｆｃ領域）で大部分が見つかる。抗体エフェクター機能の例として、例えばＦｃ受容体結合及び抗体依存－細胞媒介細胞傷害性（ＡＤＣＣ）が挙げられる。いくつかの実施形態において、本明細書での抗体はエフェクター機能を本質的に欠く。いくつかの実施形態において、本明細書での抗体は最小のエフェクター機能を保持する。エフェクター機能を修飾または除去する方法は当該技術分野では周知であり、当該方法としては、エフェクター機能に関与するＦｃ領域の全体または一部を除去する（すなわち、Ｆａｂフラグメント、単鎖抗体、本明細書に記載した様のもの、及び当該技術分野で公知なものなど（これ ら に限定し な い ）Ｆｃ領域の全部または一部を欠くフォーマットでの抗体または抗体フラグメントの使用）、エフェクター機能を除去するために１つ以上のアミン酸位置（影響のあるＦｃ結合：位置２３８、２３９、２４８、２４９、２５２、２５４、２５６、２６５、２６８、２６９、２７０、２７２、２７８、２８９、２９２、２９３、２９４、２９５、２９６、２９７、２９８、３０１、３０３、３１１、３２２、３２４、３２７、３２９、３３３、３３５、３３８、３４０、３７３、３７６、３８２、３８８、３８９、４１４、４１６、４１９、４３４、４３５、４３６、４３７、４３８および４３９）でのＦｃ領域の修飾、抗体のグリコシル化の修飾（野生型哺乳類グリコシル化を可能としない環境での抗体の作製、既にグリコシル化された抗体から１つ以上の炭水化物基の除去、及びこれらの位置（限定されないが、Ｎ２９７Ｇ及びＮ２９７Ａ及びＤ２６５Ａを含む）での抗体の被グリコシル化能力を除去するために１つ以上のアミノ酸位置での抗体修飾を挙げることができるが、これらに限定されない。

【０１１５】

抗体「補体活性化」機能、または「補体経路の活性化」を可能にする、または誘発する抗体の特性は、交互に使用され、対象における免疫系の補体経路に関与または刺激する抗体の生物活性を意味する。かかる活性は、例えばＣ１ｑ結合及び補体依存細胞毒性（ＣＤＣ）を含み、抗体のＦｃ部分及び非Ｆｃ部分の両方によって仲介され得る。補体活性化機能を修飾または除去する方法は、当該技術分野では周知であり、当該方法としては、補体活性化に関与するＦｃ領域の全体または一部の除去（すなわち、Ｆａｂフラグメント、単鎖抗体、本明細書に記載した様のもの、及び当該技術分野で公知なものなど（これ らに限定し な い ）Ｆｃ領域の全部または一部を欠くフォーマットで抗体または抗体フラグメントを使用したり、あるいは補体成分との相互作用を排除または軽減させるために１つ以上のアミノ酸位置（例えば、Ｃ１ｑ結合に関与することが知られている位置２７０、３２２、３２９及び３２１）でＦｃ領域を修飾する）、及び、補体活性化に関与する非Ｆｃ領域の一部の修飾または除去（すなわち、位置１３２でのＣＨ１領域の修飾、（例えば、Ｖｉｄａｒｔｅ ｅｔ ａｌ．，（２００１）Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．２７６（４１）： ３８２１７－３８２２３）を参照）が挙げられるが、これらに限定されない。

【０１１６】

重鎖の定常ドメインのアミノ酸配列に従って、完全長抗体を異なるクラスに割り当てることができる。５つの主要なクラスの完全長抗体、ＩｇＡ、ＩｇＤ、ＩｇＥ、ＩｇＧ及びＩｇＭがあり、これらの幾つかが更にサブクラス（アイソタイプ）、例えばＩｇＧｌ、Ｉ

ｇＧ２、ＩｇＧ３、ＩｇＧ４、ＩｇＡ，及びＩｇＡ２に分類することができる。異なるクラスの抗体に対応する重鎖定常ドメインは、アルファ、デルタ、イプシロン、ガンマ及びミューと称される。異なるクラスの免疫グロブリンのサブユニット構造及び３次元立体配置は当該技術分野では周知である。

【０１１７】

本明細書で使用されるとき、「組換え型抗体」という用語は、抗体をコード化する核酸を含む組み換え型宿主細胞によって発現される抗体（例えば、キメラ、ヒト化若しくはヒト抗体またはそれらの抗原結合性フラグメント）を意味する。

【０１１８】

「宿主細胞」、「宿主細胞株」及び「宿主細胞培養」は交互に使用され、かかる細胞の子孫を含め、外因性核酸が導入される細胞を意味する。宿主細胞は、継代数に関わらず、宿主細胞から誘導される初代形質転換細胞及び子孫を含めた「形質転換体」及び「形質転換細胞」を含む。子孫は、核酸量が親細胞と完全に同一であるということではなく、突然変異が含まれる。起源的に形質転換された細胞においてスクリーニングまたは選択されたものと同じ機能または生物活性を有する突然変異体子孫が、本明細書に含まれる。組換え型抗体を産生するための「宿主細胞」の例としては、（１）哺乳類の細胞、例えばチャイニーズハムスター卵巣（ＣＨＯ）、ＣＯＳ、骨髄腫細胞（Ｙ０及びＮＳ０細胞を含む）、新生ハムスター腎臓（ＢＨＫ）、Ｈｅｌａおよびベロ（Ｖｅｒｏ）細胞、（２）昆虫細胞、例えば　ｓｆ９，ｓｆ２１　ａｎｄ　Ｔｎ５、（３）植物細胞、例えばタバコ属（例えばＮｉｃｏｔｉａｎａ　ｔａｂａｃｕｍ）に属する植物、（４）酵母細胞、例えばサッカロミケス属（例えば、Ｓａｃｃｈａｒｏｍｙｃｅｓ　ｃｅｒｅｖｉｓｉａｅ）またはアスペルギルス属（例えばＡｓｐｅｒｇｉｌｌｕｓ　ｎｉｇｅｒ）に属する酵母細胞、（５）細菌細胞、例えば大腸菌細胞または枯草菌細胞などが挙げられる。

【０１１９】

本明細書で使用されるとき、「特異的に結合する」または「に特異的に結合する」は、抗原に選択的または優先的に結合する抗体を意味する。結合親和性は、一般にスキャチャード解析または表面プラズモン共鳴法（例えばＢＩＡＣＯＲＥ（登録商標）を使用）などの標準分析によって決定される。

【０１２０】

参照抗体と「同じエピトープに結合する抗体」は、競合アッセイにおいて、その抗原への参照抗体の結合を５０％以上遮断する抗体、および逆に、競合アッセイにおいて、その抗原への抗体の結合を５０％以上遮断する参照抗体を指す。いつかの実施形態において、本発明の二重特異性または多重特異性抗体の１つを形成する抗ＢＡＣＥ１抗体は抗体６２６６が結合したＢＡＣＥ１エピトープに結合する。例示的競合アッセイが本明細書に提供される。

【０１２１】

本明細書で使用されるとき、「細胞毒性薬」という用語は、細胞機能を阻害若しくは阻む、および／または細胞死若しくは破壊を引き起こす物質を指す。細胞毒性薬としては、放射性同位元素（例えば、At^{211}、I^{131}、I^{125}、Y^{90}、Re^{186}、Re^{188}、Sm^{153}、Bi^{212}、P^{32}、Pb^{212}及びＬｕの放射性同位元素）；化学療法剤または薬剤（例えば、メトトレキサート、アドリアマイシン、ビンカアルカロイド（ビンクリスチン、ビンブラスチン、エトポシド）、ドキソルビシン、メルファラン、マイトマイシンＣ、クロランブシル、ダウノルビシンまたは他の挿入剤）；成長阻害剤；酵素およびその断片（例えば核酸分解酵素）；抗生物質；細菌、真菌、植物または動物起源（それらの断片及び／または変異体を含む）の小分子毒素または酵素的に活性な毒素などの毒素；及び、本明細書で開示された種々の抗腫瘍または抗がん剤を挙げることができるが、これらに限定されない。

【０１２２】

薬剤、例えば、製剤の「有効量」は、所望の治療的または予防的結果を達成するために必要な投薬量と、かつ必要な期間での有効な有効な量を指す。

【０１２３】
本明細書における「Ｆｃ領域」という用語は、定常領域の少なくとも一部分を含む免役グロブリン重鎖のＣ末端領域を定義するために使用される。この用語は、天然配列Ｆｃ領域及び変異体Ｆｃ領域を含む。いくつかの実施形態において、ヒトＩｇＧ重鎖Ｆｃ領域はＣｙｓ２２６から、またはＰｒｏ２３０から重鎖カルボキシル末端まで拡大する。しかしながら、Ｆｃ領域のＣ末端リジン（Ｌｙｓ４４７）は存在する、または存在しないとすることができる。本明細書で別途指定がない限り、Ｆｃ領域または定常領域でのアミノ酸残基の番号付けは、Ｋａｂａｔ ｅｔ ａｌ．，Ｓｅｑｕｅｎｃｅｓ ｏｆ Ｐｒｏｔｅｉｎｓ ｏｆ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｉｃａｌ Ｉｎｔｅｒｅｓｔ，５ｔｈ Ｅｄ．Ｐｕｂｌｉｃ Ｈｅａｌｔｈ Ｓｅｒｖｉｃｅ，Ｎａｔｉｏｎａｌ Ｉｎｓｔｉｔｕｔｅｓ ｏｆ Ｈｅａｌｔｈ，Ｂｅｔｈｅｓｄａ，ＭＤ，１９９１に記載されているようにＥＵインデックスとも呼ばれるＥＵ番号付与体系に従う。

【０１２４】
本明細書で使用されるとき、「ＦｃＲｎ受容体」または「ＦｃＲｎ」という用語は、ヒト若しくは霊長類の胎盤、または卵黄嚢（ウサギ）経由の母親ＩｇＧの胎児への移動、及び小腸経由の初乳から新生児への母親ＩｇＧの胎児への移動に関与することが知られているＦｃ受容体（「ｎ」は新生児を示す）を意味する。ＦｃＲｎは、ＩｇＧ分子に結合し、血清中を循環することによって一定の血清ＩｇＧレベルの維持することも知られている。「ＦｃＲｎ結合領域」または「ＦｃＲｎ受容体結合領域」は、ＦｃＲｎ受容体と相互作用する抗体の一部を意味する。抗体のＦｃＲｎ結合領域の特定の修飾が抗体またはそのフラグメントの親和性を増加させ、また分子のインビボ半減期も増加させる。１つ以上の下記アミノ酸位置、２５１、２５６、２８５、２９０、３０８、３１４、３８５、３８９、４２８、４３４及び４３６でのアミノ酸置換がＦｃＲｎ受容体と抗体の相互作用を増加させる。以下の位置、２３８、２６５、２７２、２８６、３０３、３０５、３０７、３１１、３１２、３１７、３４０、３５６、３６０、３６２、３７６、３７８、３８０、３８２、４１３、４２４または４３４における置換もＦｃＲｎ受容体と抗体の相互作用を増加させる（米国特許第７，３７１，８２６号）。

【０１２５】
「免疫複合体」は、限定されないが、標識または細胞毒性薬を含む１つ以上の異種分子（複数）と複合体化した抗体である。任意選択で、かかる複合体化はリンカーを介する。

【０１２６】
本明細書で使用されるとき、「リンカー」は、抗体を共有結合または非共有結合で異種分子に連結する構造である。特定の実施形態においてリンカーはペプチドである。他の実施形態においてリンカーは化学的リンカーである。

【０１２７】
「標識」は、本明細書の抗体と結合するマーカーであり、検出または画像化に使用される。かかる標識の例として、放射標識、蛍光団、発色団またはアフィニティー標識が挙げられる。いくつかの実施形態において、標識は、医学画像（例えばｔｃ９９ｍまたはＩ１２３）、または例えば、ヨウ素１２３、ヨウ素１３１、インジウム１１１、フッ素１９、炭素１３、窒素１５、酸素１７、ガドリニウム、マンガン、鉄などの核磁気共鳴（ＮＭＲ）イメージング用スピン標識（別名、磁気共鳴画像、ｍｒｉ）に使用される放射標識である。

【０１２８】
「個体」または「対象」は哺乳類である。哺乳類としては、家畜（例えば、ウシ、ヒツジ、ネコ、イヌ、およびウマ）、霊長類（例えば、ヒト、およびサル等の非ヒト霊長類）、ウサギ、および齧歯類（例えば、マウスおよびラット）が挙げられるが、これらに限定されない。ある特定の実施形態において、個体または対象はヒトである。

【０１２９】
「単離された」抗体は、自然環境の構成要素から分離されているものである。いくつかの実施形態において、抗体は、例えば、電気泳動的（例えば、ＳＤＳ－ＰＡＧＥ、等電集

束法（ＩＥＦ）、キャピラリー電気泳動法）またはクロマトグラフィー（例えば、イオン交換または逆相ＨＰＬＣ）法で測定したときに９５％または９９％以上の純度に精製される。抗体純度の評価方法の概要に関して、例えば、Ｆｌａｔｍａｎ　ｅｔ　ａｌ．，Ｊ．Ｃｈｒｏｍａｔｏｇｒ．Ｂ　８４８：７９－８７（２００７）を参照されたい。

【０１３０】

「単離核酸」は、その天然環境の構成要素から分離された核酸分子を指す。単離された核酸は、核酸分子を通常に含むが、核酸分子が染色体外または天然の染色体位置とは異なる染色体位置にある細胞に含まれる核酸分子を含む。

【０１３１】

「抗体をコード化する単離された核酸」は、例えば単一型ベクターまたはセパレート型ベクター　の核酸分子（複数）、また例えば宿主細胞における１つ以上の場所に存在する核酸分子（複数）を含め、抗体重鎖および軽鎖（または、それらのフラグメント）をコード化する１つ以上の核酸分子を意味する。

【０１３２】

「添付文書」という用語は、かかる治療薬の適応症、使用法、投薬量、投与、併用療法、禁忌症についての情報、および／またはその使用に関する警告を含む、治療薬の商用のパッケージに通例含まれる指示書を指すために使用される。

【０１３３】

参照ポリペプチド配列に関する「アミノ酸配列同一性パーセント（％）」は、配列をアライメントし、配列同一性最大パーセントを得るのに必要な場合はギャップを導入した後に、いかなる保存的置換も配列同一性の部分として考慮せずに、参照ポリペプチド配列におけるアミノ酸残基と同一である、候補配列におけるアミノ酸残基の割合として定義される。アミノ酸配列同一性パーセントを決定する目的のためのアライメントは、当該技術分野における技術の範囲内である種々の方式で、例えばＢＬＡＳＴ、ＢＬＡＳＴ－２、ＡＬＩＧＮ、またはＭｅｇａｌｉｇｎ（ＤＮＡＳＴＡＲ）ソフトウェア等の、公的に利用可能なコンピュータソフトウェアを使用して、達成することができる。当業者は、比較されている配列の完全長にわたる最大のアライメントを得るために必要とされる任意のアルゴリズムを含む、配列をアライメントするために適切なパラメータを決定することができる。しかしながら、本明細書における目的のために、アミノ酸配列同一性％値は、配列比較コンピュータプログラムＡＬＩＧＮ－２を使用して生成される。ＡＬＩＧＮ－２配列比較コンピュータプログラムはＧｅｎｅｎｔｅｃｈ，Ｉｎｃ．によって著された。また、ソースコードは米国著作権登録番号ＴＸＵ５１００８７の下で登録された米国著作権局、ワシントンＤ．Ｃ．、２０５５９の利用者文書でファイルされている。ＡＬＩＧＮ－２プログラムは、Ｇｅｎｅｎｔｅｃｈ，Ｉｎｃ．，Ｓｏｕｔｈ　Ｓａｎ　Ｆｒａｎｃｉｓｃｏ，Ｃａｌｉｆｏｒｎｉａから公的に利用可能であるか、またはソースコードから編集されてもよい。ＡＬＩＧＮ－２プログラムは、デジタルＵＮＩＸ　Ｖ４．０Ｄを含むＵＮＩＸオペレーティングシステムで使用する場合は編集すべきである。全ての配列比較パラメータは、ＡＬＩＧＮ－２プログラムによって設定され、変更はない。

【０１３４】

アミノ酸配列比較のためにＡＬＩＧＮ－２が用いられる場合、所与のアミノ酸配列Ｂに対する、それとの、またはそれと対比した、所与のアミノ酸配列Ａのアミノ酸配列同一性％（代替的に、所与のアミノ酸配列Ｂに対する、それとの、またはそれと対比したある特定のアミノ酸配列同一性％を有する、またはそれを含む、所与のアミノ酸配列Ａと表現され得る）は、次のように算出される：

１００×分数Ｘ／Ｙ

式中、Ｘは、Ａ及びＢのプログラム配列で配列アラインメントプログラムＡＬＩＧＮ－２による同一マッチスコア一のアミノ酸残基の数であり、Ｙは、Ｂのアミノ酸残基の総数である。アミノ酸配列Ａの長さがアミノ酸配列Ｂの長さと等しくない場合、Ｂに対するＡの％アミノ酸配列同一性はＡに対するＢの％アミノ酸配列同一性に等しくないであろうことは理解されよう。特に記載されない限り、本明細書で使用されるすべてのアミノ酸配列同

一性値％は、ＡＬＩＧＮ－２コンピュータプログラムを使用して前節に記載したように得られる。

【０１３５】

「製剤」という用語は、調製物の中に含有される活性成分の生物活性が有効になるような形態であり、製剤が投与されるであろう対象にとって許容できないほど有毒である追加の構成成分を何ら含有しない調製物を指す。

【０１３６】

「薬剤的に許容される担体」は、活性成分以外の薬学的製剤中の成分であり、対象に対し非毒性な成分を意味する。薬剤的に許容される担体としては、限定はされないが、バッファー、賦形剤、安定剤または防腐剤が挙げられる。

【０１３７】

本明細書で使用されるとき、「治療」（および「治療する」または「治療すること」等のその文法上の変形形態）は、治療されている個体の自然過程を変えることを目的とした臨床介入を指し、予防のために、または臨床病理過程の間に行うことができる。治療の望ましい効果には、疾患の発生または再発の予防、症状の緩和、疾患の任意の直接的または間接的な病理学的結果の減少、転移の予防、疾患進行速度の低減、病状の回復または一次緩和、および寛解または予後の改善が含まれるが、これらに限定されない。いくつかの実施形態において、本発明の抗体を使用して、疾患の発達を遅らせるか、または疾患の進行を減速させる。

【０１３８】

「可変領域」または「可変ドメイン」という用語は、抗体を抗原に結合することに関与する、抗体重鎖または軽鎖のドメインを指す。天然抗体の重鎖及び軽鎖の可変ドメイン（それぞれ、ＶＨとＶＬ）は、それぞれ４つの保存されたフレームワーク領域（ＦＲ）及び３つの超可変領域（ＨＶＲ）を含む領域をもつ同じ構造を有する。（例えば、Ｋｉｎｄｔ　ｅｔ　ａｌ．Ｋｕｂｙ　Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ，６^{ｔｈ}　ｅｄ．，Ｗ．Ｈ．Ｆｒｅｅｍａｎ　ａｎｄ　Ｃｏ．，ｐａｇｅ　９１（２００７）を参照）。抗原結合特異性を付与するためには、単一のＶＨまたはＶＬドメインで十分であり得る。さらに、抗原に結合する抗体からのＶＨまたはＶＬドメインを使用して、それぞれ、相補的ＶＬまたはＶＨドメインのライブラリーをスクリーニングして、特定の抗原に結合する抗体を単離してもよい。例えば、Ｐｏｒｔｏｌａｎｏ　ｅｔ　ａｌ．，Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１５０：８８０－８８７（１９９３）；Ｃｌａｒｋｓｏｎ　ｅｔ　ａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ　３５２：６２４－６２８（１９９１）を参照されたい。

【０１３９】

本明細書で使用される「ベクター」という用語は、連結している別の核酸を増殖することが可能な核酸分子を指す。この用語には、自己複製核酸構造としてのベクター、ならびに導入された宿主細胞のゲノムに組み込まれたベクターが含まれる。ある特定のベクターは、作動的に連結された核酸の発現を導くことが可能である。かかるベクターは、本明細書で「発現ベクター」と称される。

【０１４０】

ＩＩ．組成物および方法

Ａ．抗ＴｆＲ／ＢＡＣＥ１抗体およびその複合体の製造

いくつかの態様において、本発明は、一つには、ＢＢＢを横断して所望の分子を輸送するのに使用が可能な抗ＴｆＲ抗体に基づく。かかる実施形態において、抗ＴｆＲ／ＢＡＣＥ１抗体を提供する。特定の実施形態において、ヒトＴｆＲに結合する抗体を提供する。特定の実施形態において、ヒトＴｆＲ及び霊長類ＴｆＲに結合する抗体を提供する。本発明の抗体は、脳及び／またはＣＮＳに影響を及ぼす疾患の診断または治療に役立つ。

【０１４１】

Ａ．例示的な抗ＴｆＲ抗体

いくつかの態様において、本発明はＴｆＲ及びＢＡＣＥ１に結合する単離した多重特異性抗体を提供する。特定の実施形態において、本発明の多重特異性抗体の抗ＴｆＲアーム

はヒトＴｆＲ及び霊長類ＴｆＲの両方に対して特異的に結合する。特定の実施形態において、本発明の多重特異性抗体の抗ＴｆＲアームはＴｆＲに対するトランスフェリンの結合を阻害しない。特定の実施形態において、本発明の多重特異性抗体の抗ＴｆＲアームはＴｆＲの先端ドメインに結合する。特定の実施形態において、本発明の多重特異性抗体の抗ＴｆＲアームはＴｆＲの非先端ドメインに結合する。特定の実施形態において、多重特異性抗体の抗ＴｆＲアームは、例えば、抗ＢＡＣＥ１抗体が多重特異性抗体の第二アームを形成するなど、１つ以上の複合化造影化合物または治療化合物輸送を、ＢＢＢを横断して輸送するのに使用することができる。

【０１４２】

いくつかの態様において、本発明は、（ａ）配列番号３２のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号３３のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、（ｃ）配列番号３４のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３、（ｄ）配列番号２９のアミノ酸配列を含む　ＨＶＲ－Ｌ１、（ｅ）配列番号３０のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２、及び（ｆ）配列番号３１のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３から選択された、少なくとも１つ、２つ、３つ、４つ、５つ、または６つのＨＶＲを含む抗ＴｆＲ抗体を含む多重特異性抗体を提供する。いくつかの態様において、抗体は前述のＨＶＲ配列の全６つを含む。いくつかの態様において、図３Ａ及び表３で示すように多重特異性抗体の抗ＴｆＲアームはクローン７Ａ４である。

【０１４３】

いくつかの態様において、本発明は、（ａ）配列番号３７のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号３８のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、（ｃ）配列番号３９のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３、（ｄ）配列番号３５のアミノ酸配列を含む　ＨＶＲ－Ｌ１、（ｅ）配列番号３０のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２、及び（ｆ）配列番号３６のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３から選択された、少なくとも１つ、２つ、３つ、４つ、５つ、または６つのＨＶＲを含む抗ＴｆＲ抗体を含む多重特異性抗体を提供する。いくつかの態様において、多重特異性抗体の抗ＴｆＲアームは前述のＨＶＲ配列の全６つを含む。いくつかの態様において、図３Ａ及び表３で示すように抗体はクローン８Ａ２である。

【０１４４】

いくつかの態様において、本発明は、（ａ）配列番号３２のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号４０のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、（ｃ）配列番号３４のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３、（ｄ）配列番号３５のアミノ酸配列を含む　ＨＶＲ－Ｌ１、（ｅ）配列番号３０のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２、（ｆ）配列番号３６のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３から選択された、少なくとも１つ、２つ、３つ、４つ、５つ、または６つのＨＶＲを含む抗ＴｆＲ抗体アームを含む抗ＴｆＲ／ＢＡＣＥ１多重特異性抗体を提供する。いくつかの態様において、抗体は前述のＨＶＲ配列の全６つを含む。いくつかの態様において、図３Ａ及び表３で示すように抗ＴｆＲアームはクローン１５Ｄ２である。

【０１４５】

いくつかの態様において、本発明は、（ａ）配列番号３７のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号４３のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、（ｃ）配列番号４４のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３、（ｄ）配列番号４１のアミノ酸配列を含む　ＨＶＲ－Ｌ１、（ｅ）配列番号３０のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２、及び（ｆ）配列番号４２のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３から選択された、少なくとも１つ、２つ、３つ、４つ、５つ、または６つのＨＶＲを含む抗ＴｆＲ抗体アームを含む抗ＴｆＲ／ＢＡＣＥ１多重特異性抗体を提供する。いくつかの態様において、抗体は前述のＨＶＲ配列の全６つを含む。いくつかの態様において、図３Ａ及び表３で示すように抗ＴｆＲアームはクローン１０Ｄ１１である。

【０１４６】

いくつかの態様において、本発明は、（ａ）配列番号３２のアミノ酸配列を含むＨＶＲ

－Ｈ１、（ｂ）配列番号３３のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、（ｃ）配列番号３４のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３、（ｄ）配列番号２９のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、（ｅ）配列番号３０のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２、及び（ｆ）配列番号３１のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３から選択された、少なくとも１つ、２つ、３つ、４つ、５つ、または６つのＨＶＲを含む抗ＴｆＲ抗体アームを含む抗ＴｆＲ／ＢＡＣＥ１多重特異性抗体を提供する。いくつかの態様において、抗体は前述のＨＶＲ配列の全６つを含む。いくつかの態様において、図３Ａ及び表３で示すように抗ＴｆＲアームはクローン７Ｂ１０である。

【０１４７】

いくつかの態様において、本発明は、（ａ）配列番号５３のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号５４のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、（ｃ）配列番号５５のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３、（ｄ）配列番号５０のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、（ｅ）配列番号５１のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２、及び（ｆ）配列番号５２のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３から選択された、少なくとも１つ、２つ、３つ、４つ、５つ、または６つのＨＶＲを含む抗ＴｆＲ抗体アームを含む抗ＴｆＲ／ＢＡＣＥ１多重特異性抗体を提供する。いくつかの態様において、抗体は前述のＨＶＲ配列の全６つを含む。いくつかの態様において、図３Ｂ及び表３で示すように抗ＴｆＲアームはクローン１５Ｇ１１である。

【０１４８】

いくつかの態様において、本発明は、（ａ）配列番号５３のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号５８のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、（ｃ）配列番号５９のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３、（ｄ）配列番号５６のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、（ｅ）配列番号５７のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２、及び（ｆ）配列番号５２のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３から選択された、少なくとも１つ、２つ、３つ、４つ、５つ、または６つのＨＶＲを含む抗ＴｆＲ抗体アームを含む抗ＴｆＲ／ＢＡＣＥ１多重特異性抗体を提供する。いくつかの態様において、抗体は前述のＨＶＲ配列の全６つを含む。いくつかの態様において、図３Ｂ及び表３で示すように抗ＴｆＲアームはクローン１６Ｇ５である。

【０１４９】

いくつかの態様において、本発明は、（ａ）配列番号５３のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号６３のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、（ｃ）配列番号５５のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３、（ｄ）配列番号６０のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、（ｅ）配列番号６１のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２、及び（ｆ）配列番号６２のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３から選択された、少なくとも１つ、２つ、３つ、４つ、５つ、または６つのＨＶＲを含む抗ＴｆＲ抗体アームを含む抗ＴｆＲ／ＢＡＣＥ１多重特異性抗体を提供する。いくつかの態様において、抗体は前述のＨＶＲ配列の全６つを含む。いくつかの態様において、図３Ｂ及び表３で示すように抗ＴｆＲアームはクローン１３Ｃ３である。

【０１５０】

いくつかの態様において、本発明は、（ａ）配列番号５３のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号６５のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、（ｃ）配列番号５５のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３、（ｄ）配列番号６０のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、（ｅ）配列番号６４のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２、及び（ｆ）配列番号５２のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３から選択された、少なくとも１つ、２つ、３つ、４つ、５つ、または６つのＨＶＲを含む抗ＴｆＲ抗体アームを含む抗ＴｆＲ／ＢＡＣＥ１多重特異性抗体を提供する。いくつかの態様において、抗体は前述のＨＶＲ配列の全６つを含む。いくつかの態様において、図３Ｂ及び表３で示すように抗ＴｆＲアームはクローン１６Ｇ４である。

【０１５１】

いくつかの態様において、本発明は、（ａ）配列番号７４のアミノ酸配列を含むＨＶＲ

－Ｈ１、（ｂ）配列番号７５のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、（ｃ）配列番号７６のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３、（ｄ）配列番号７１のアミノ酸配列を含む　ＨＶＲ－Ｌ１、（ｅ）配列番号７２のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２、及び（ｆ）配列番号７３のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３から選択された、少なくとも１つ、２つ、３つ、４つ、５つ、または６つのＨＶＲを含む抗ＴｆＲ抗体アームを含む抗ＴｆＲ／ＢＡＣＥ１多重特異性抗体を提供する。いくつかの態様において、抗体は前述のＨＶＲ配列の全６つを含む。いくつかの態様において、図３Ｃ及び表３で示すように抗ＴｆＲアームはクローン１６Ｆ６である。

【０１５２】

いくつかの態様において、本発明は、（ａ）配列番号８０のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号８１のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、（ｃ）配列番号８２のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３、（ｄ）配列番号７７のアミノ酸配列を含む　ＨＶＲ－Ｌ１、（ｅ）配列番号７８のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２、及び（ｆ）配列番号７９のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３から選択された、少なくとも１つ、２つ、３つ、４つ、５つ、または６つのＨＶＲを含む抗ＴｆＲ抗体アームを含む抗ＴｆＲ／ＢＡＣＥ１多重特異性抗体を提供する。いくつかの態様において、抗体は前述のＨＶＲ配列の全６つを含む。いくつかの態様において、図３Ｄ及び表３で示すように抗ＴｆＲアームはクローン７Ｇ７である。

いくつかの態様において、本発明は、（ａ）配列番号８０のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号８３のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、（ｃ）配列番号８４のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３、（ｄ）配列番号７７のアミノ酸配列を含む　ＨＶＲ－Ｌ１、（ｅ）配列番号７８のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２、及び（ｆ）配列番号７９のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３から選択された、少なくとも１つ、２つ、３つ、４つ、５つ、または６つのＨＶＲを含む抗ＴｆＲ抗体アームを含む抗ＴｆＲ／ＢＡＣＥ１多重特異性抗体を提供する。いくつかの態様において、抗体は前述のＨＶＲ配列の全６つを含む。いくつかの態様において、図３Ｄ及び表３で示すように抗ＴｆＲアームはクローン４Ｃ２である。

【０１５３】

いくつかの態様において、本発明は、（ａ）配列番号８８のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号８９のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、（ｃ）配列番号９０のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３、（ｄ）配列番号８５のアミノ酸配列を含む　ＨＶＲ－Ｌ１、（ｅ）配列番号８６のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２、及び（ｆ）配列番号８７のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３から選択された、少なくとも１つ、２つ、３つ、４つ、５つ、または６つのＨＶＲを含む抗ＴｆＲ抗体アームを含む抗ＴｆＲ／ＢＡＣＥ１多重特異性抗体を提供する。いくつかの態様において、抗体は前述のＨＶＲ配列の全６つを含む。いくつかの態様において、図３Ｄ及び表３で示すように抗ＴｆＲアームはクローン１Ｂ１２である。

【０１５４】

いくつかの態様において、本発明は、（ａ）配列番号９４のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号９５のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、（ｃ）配列番号９６のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３、（ｄ）配列番号９１のアミノ酸配列を含む　ＨＶＲ－Ｌ１、（ｅ）配列番号９２のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２、及び（ｆ）配列番号９３のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３から選択された、少なくとも１つ、２つ、３つ、４つ、５つ、または６つのＨＶＲを含む抗ＴｆＲ抗体アームを含む抗ＴｆＲ／ＢＡＣＥ１多重特異性抗体を提供する。いくつかの態様において、抗体は前述のＨＶＲ配列の全６つを含む。いくつかの態様において、図３Ｄ及び表３で示すように抗ＴｆＲアームはクローン１３Ｄ４である。

いくつかの態様において、本発明は、（ａ）配列番号３２のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号３３のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、（ｃ）配列番号３４のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３、（ｄ）配列番号２９のアミノ酸配列を含む　ＨＶＲ－Ｌ

１、（ｅ）配列番号３０のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２、及び（ｆ）配列番号１２７のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３から選択された、少なくとも１つ、２つ、３つ、４つ、５つ、または６つのＨＶＲを含む抗ＴｆＲ抗体アームを含む抗ＴｆＲ／ＢＡＣＥ１多重特異性抗体を提供する。いくつかの態様において、抗体は前述のＨＶＲ配列の全６つを含む。いくつかの態様において、図４Ｂ及び表４で示すように抗ＴｆＲアームはクローン７Ａ４．ｖ１５である。

【０１５５】

上のクローンをＨＶＲ内で、配列類似性で４つの相補性群に分類する。表３で示すように、各ＨＶＲにおいて共通配列は提供した抗体配列から容易に導き出される。非限定的な例として、クラスＩ抗体コンセンサスＨＶＲは下の通りである：

ＨＶＲ－Ｌ１：Ａｒｇ－Ａｌａ－Ｓｅｒ－Ｇｌｕ－Ｓｅｒ－Ｖａｌ－Ａｓｐ－［ＳｅｒまたはＡｓｐ］－Ｔｙｒ－Ｇｌｙ－［ＡｓｎまたはＰｒｏ］－Ｓｅｒ－Ｐｈｅ－Ｍｅｔ－Ｈｉｓ（配列番号４５）；

ＨＶＲ－Ｌ２：Ａｒｇ－Ａｌａ－Ｓｅｒ－Ａｓｎ－Ｌｅｕ－Ｇｌｕ－Ｓｅｒ（配列番号３０）；

ＨＶＲ－Ｌ３：Ｇｌｎ－［ＧｌｎまたはＨｉｓ］－Ｓｅｒ－Ａｓｎ－Ｇｌｕ－［Ａｌａ、ＧｌｙまたはＡｓｐ］－Ｐｒｏ－Ｐｒｏ－Ｔｈｒ（配列番号４６）、

ＨＶＲ－Ｈ１：Ａｓｐ－Ｔｙｒ－［ＡｌａまたはＧｌｙ］－Ｍｅｔ－Ｈｉｓ（配列番号４７）；

ＨＶＲ－Ｈ２：［ＧｌｙまたはＶａｌ］－Ｉｌｅ－Ｓｅｒ－［Ｔｈｒ、ＰｈｅまたはＰｒｏ］－Ｔｙｒ－［ＰｈｅまたはＳｅｒ］－Ｇｌｙ－［ＡｒｇまたはＬｙｓ］－Ｔｈｒ－Ａｓｎ－Ｔｙｒ－［ＡｓｎまたはＳｅｒ］－Ｇｌｎ－［ＬｙｓまたはＡｓｎ］－Ｐｈｅ－［ＬｙｓまたはＭｅｔ］－Ｇｌｙ（配列番号４８）；

ＨＶＲ－Ｈ３：Ｇｌｙ－Ｌｅｕ－Ｓｅｒ－Ｇｌｙ－Ａｓｎ－［ＴｙｒまたはＰｈｅ］－Ｖａｌ－［ＭｅｔまたはＶａｌ］－Ａｓｐ－［ＴｙｒまたはＰｈｅ］（配列番号４９）。（表３を参照）。クラスＩＩ及びＩＶのコンセンサス配列も表３で提供する。

【０１５６】

いくつかの態様において、本発明は、（ａ）配列番号４７のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号４８のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、（ｃ）配列番号４９のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３、（ｄ）配列番号４５のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、（ｅ）配列番号３０のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２、及び（ｆ）配列番号４６のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３から選択された、少なくとも１つ、２つ、３つ、４つ、５つ、または６つのＨＶＲを含む抗ＴｆＲ抗体アームを含む抗ＴｆＲ／ＢＡＣＥ１多重特異性抗体を提供する。いくつかの態様において、抗体は前述のＨＶＲ配列の全６つを含む。

【０１５７】

いくつかの態様において、本発明は、（ａ）配列番号５３のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号６９のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、（ｃ）配列番号７０のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３、（ｄ）配列番号６６のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、（ｅ）配列番号６７のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２、及び（ｆ）配列番号６８のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３から選択された、少なくとも１つ、２つ、３つ、４つ、５つ、または６つのＨＶＲを含む抗ＴｆＲ抗体アームを含む抗ＴｆＲ／ＢＡＣＥ１多重特異性抗体を提供する。いくつかの態様において、抗体は前述のＨＶＲ配列の全６つを含む。

【０１５８】

いくつかの態様において、本発明は、（ａ）配列番号１００のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１、（ｂ）配列番号１０１のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ２、（ｃ）配列番号１０２のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ３、（ｄ）配列番号９７のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１、（ｅ）配列番号９８のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２、及び（ｆ）配列番号９９のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３から選択された、少なくとも１つ、２つ、３つ

、４つ、５つ、または６つのＨＶＲを含む抗ＴｆＲ抗体アームを含む抗ＴｆＲ／ＢＡＣＥ１多重特異性抗体を提供する。いくつかの態様において、抗体は前述のＨＶＲ配列の全６つを含む。

【０１５９】

いくつかの態様において、本発明は、上述の任意の抗体の少なくとも１つ、少なくとも２つ、または全３つのＶＨ　ＨＶＲ配列を含む抗ＴｆＲ／ＢＡＣＥ１多重特異性抗体を提供する。いくつかの実施形態において、抗体は上述のいずれか１つの抗体のＨＶＲ－Ｈ３配列を含む。別の実施形態において、抗体は上述のいずれか１つの抗体のＨＶＲ－Ｈ３及びＨＶＲ－Ｌ３配列を含む。更なる実施形態において、抗体は上述のいずれか１つの抗体のＨＶＲ－Ｈ３、ＨＶＲ－Ｌ３及びＨＶＲ－Ｈ２配列を含む。別の実施形態において、抗体は上述のいずれか１つの抗体のＨＶＲ－Ｈ１、ＨＶＲ－Ｈ２及びＨＶＲ－Ｈ３配列を含む。別の態様において、本発明は上述の任意の抗体の少なくとも１つ、少なくとも２つ、または全３つのＶＬ　ＨＶＲ　配列を含む抗体を提供する。いくつかの実施形態において、抗体は上述のいずれか１つの抗体のＨＶＲ－Ｌ１、ＨＶＲ－Ｌ２及びＨＶＲ－Ｌ３配列を含む。

【０１６０】

別の態様において、本発明の多重特異性抗体は、（ａ）上述のいずれか１つの抗体のＨＶＲ－Ｈ１、ＨＶＲ－Ｈ２及びＨＶＲ－Ｈ３配列から選択した少なくとも１つ、少なくとも２つ、または全３つのＶＨ　ＨＶＲ配列を含むＶＨドメイン、及び（ｂ）上述のいずれか１つの抗体のＨＶＲ－Ｌ１、ＨＶＲ－Ｌ２及びＨＶＲ－Ｌ３配列から選択した少なくとも１つ、少なくとも２つ、または全３つのＶＬ　ＨＶＲ　配列を含むＶＬドメインを含む。

【０１６１】

いずれかの上記実施形態において、多重特異性抗体の抗ＴｆＲアームはヒト化される。いくつかの実施形態において、多重特異性抗体の抗ＴｆＲアームは、いずれかの上記実施形態におけるようにＨＶＲを含み、更に、受容体ヒトフレームワーク、例えばヒト免疫グロブリンフレームワークまたはヒトコンセンサスフレームワークを含む。別の実施形態において、多重特異性抗体の抗ＴｆＲアームは、いずれかの上記実施形態におけるようにＨＶＲを含み、更に、１つ以上のＦＲ領域に１つ以上のアミノ酸置換を含むＶＨまたはＶＬを含む。本明細書での例２によると、出願人は上記抗体から選択した特定の抗体でアラニンスキャニングを実行し、選択したＦＲ位置でのアミノ酸修飾にもかかわらず類似または改良された結合が得られたことが決定された。本明細書の図４Ｅ－１と４Ｅ－２及び例２で示したように、抗体のクラスＩ－ＩＩＩ　群に関して、１つ以上のＦＲに修飾を有する異型抗体が親和性及び結合特異性を保持した。例えば、抗体１５Ｇ１１に関して、軽鎖ＦＲ２の位置４３及び４８、重鎖ＦＲ２の位置４８、重鎖ＦＲ３の位置６７、６９、７１及び７３は、図４Ｅ－１及び４Ｅ－２に示すように修飾される場合があったが、結果として生じた抗体はなおヒト／霊長類ＴｆＲに対し、特異性と強い親和性を保持した。別の例において、抗体７Ａ４に関して、軽鎖ＦＲ３の位置５８及び６８、重鎖ＦＲ１の位置２４、重鎖ＦＲ３の位置７１は、図４Ｅ－１及び４Ｅ－２に示すように修飾される場合があったが、結果として生じた抗体はなおヒト／霊長類ＴｆＲに対し、特異性と強い親和性を保持した。第３に例において、抗体１６Ｆ６に関して、軽鎖ＦＲ２の位置４３及び４４、重鎖ＦＲ１の位置２４、重鎖ＦＲ３の位置７８は、図４Ｅ－１及び４Ｅ－２に示すように修飾される場合があったが、結果として生じた抗体はなおヒト／霊長類ＴｆＲに対し、特異性と強い親和性を保持した。別の態様において、抗ＴｆＲ／ＢＡＣＥ１二重特異性抗体は、配列番号７～１０、１５～１８、２０、２５～２８、１０８、１１４、１２０、１２６、４０３及び４０４の任意の１つのアミノ酸配列と少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％または１００％配列同一性を有する重鎖可変ドメイン（ＶＨ）配列を含む。特定の実施形態において、少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％または９９％同一性を有するＶＨ配列は、参照配列と比較して置換（例えば、保存的置換）、挿入または欠

失を有するが、その配列を含む抗ＴｆＲ／ＢＡＣＥ１多重特異性抗体はＴｆＲに対する結合親和性を保持する。特定の実施形態において、配列番号７～１０、１５～１８、２０、２５～２８、１０８、１１４、１２０及び１２６のいずれか１つで合計１～１０のアミノ酸が置換、挿入及び欠失されている。ある特定の実施形態において、置換、挿入、または欠失は、ＨＶＲの外側の領域で（すなわち、ＦＲにおいて）生じる。任意選択で、抗ＴｆＲ／ＢＡＣＥ１二重特異性抗体が以下の配列の翻訳後修飾を含め、配列番号７～１０、１５～１８、２０、２５～２８、１０８、１１４、１２０、１２６、４０３及び４０４の任意な１つのＶＨ配列を含む。特定の実施形態において、特定抗体のＶＨは、上のＨＶＲ及びその特定な抗体に関する表３または４のＨＶＲから選択した１つ、２つまたは３つのＨＶＲを含む。本発明の抗体のＶＨ配列は本明細書で図３及び４に示す。

【０１６２】

別の態様において、抗ＴｆＲ／ＢＡＣＥ１多重特異性抗体を提供し、当該抗体が、配列番号４－６、１１－１４、１９、２１－２４、１０５、１１１、１１７、１２３、４０１及び４０２の任意の１つのアミノ酸配列と少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％または１００％配列同一性を有する軽鎖可変ドメイン（ＶＬ）を含む。特定の実施形態において、少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％または９９％同一性を有するＶＬ配列は、参照配列と比較して置換（例えば、保存的置換）、挿入または欠失を有するが、その配列を含む抗ＴｆＲ／ＢＡＣＥ１多重特異性抗体はＴｆＲに対する結合親和性を保持する。特定の実施形態において、配列番号４－６、１１－１４、１９、２１－２４、１０５、１１１、１１７、１２３、４０１または４０２のいずれか１つで合計１～１０のアミノ酸が置換、挿入及び欠失されている。ある特定の実施形態において、置換、挿入、または欠失は、ＨＶＲの外側の領域で（すなわち、ＦＲにおいて）生じる。任意選択で、抗ＴｆＲ／ＢＡＣＥ１多重特異性抗体が以下の配列の翻訳後修飾を含め、配列番号４－６、１１－１４、１９、２１－２４、１０５、１１１、１１７、１２３、４０１及び４０２の任意な１つのＶＬ配列を含む。特定の実施形態において、ＶＬは、上のＨＶＲ及びその特定な抗体に関する表３または４のＨＶＲから選択した１つ、２つまたは３つのＨＶＲを含む。本発明の抗体のＶＬ配列は本明細書で図３及び４に示す。

【０１６３】

別の態様においては、抗体が上記に提供した任意の実施形態のようにＶＨを含み、ＶＬが上記に提供した任意な実施形態のようにＶＬを含む抗ＴｆＲＢＡＣＥ１多重特異性抗体を提供する。いくつかの実施形態において、抗体は、それらの配列の翻訳後修飾を含め、それぞれ配列番号４および７；５及び８；５及び９；６及び１０；４及び７；１１及び１５；１２及び１６；１３及び１７；１４及び１８；１９及び２０；２１及び２５；２２及び２６；２３及び２７；２４及び２８；１０５及び１０８；４０２及び１０８；４０１及び１０８；４０１及び４０３；４０１及び４０４；１０５及び４０３；１０５及び４０４；１１１及び１１４；１１７及び１２０；１２３及び１２６で、ＶＬ及びＶＨ配列を含む。

【０１６４】

更なる態様において、本発明は、本明細書で提供した抗ＴｆＲ抗体と同じエピトープに結合する抗体を提供する。例えば、特定の実施形態において、それぞれ配列番号４および７；５及び８；５及び９；６及び１０；４及び７；１１及び１５；１２及び１６；１３及び１７；１４及び１８；１９及び２０；２１及び２５；２２及び２６；２３及び２７；２４及び２８；１０５及び１０８；４０２及び１０８；４０１及び１０８；４０１及び４０３；４０１及び４０４；１０５及び４０３；１０５及び４０４；１１１及び１１４；１１７及び１２０；１２３及び１２６のＶＬ及びＶＨ配列を含む抗ＴｆＲ抗体と同じエピトープに結合する抗体を提供する。いくつかの態様において、抗体は、ＴｆＲへの結合に関し、クラスＩの任意な抗体（すなわち、クローン７Ａ４、８Ａ２、１５Ｄ２、１０Ｄ１１若しくは７Ｂ１０、またはこれらの抗体の任意な親和性成熟変種）と競合する。別の態様において、抗体は、ＴｆＲへの結合に関し、クラスＩの任意な抗体（すなわち、クローン１

５Ｇ１１、１６Ｇ５、１３Ｃ３、若しくは１６Ｇ、またはこれらの任意の親和性成熟変種）と競合する。別の態様において、抗体は、ＴｆＲへの結合に関し、クローン１６Ｆ６またはその親和性成熟変種と競合する。別の態様において、抗体は、ＴｆＲへの結合に関し、クラスＩＶの任意な抗体（すなわち、クローン７Ｇ７、４Ｃ２、１Ｂ１２、若しくは１３Ｄ４、またはこれらの任意の親和性成熟変種）と競合する。

【０１６５】

本発明の更なる態様において、上の任意な実施形態に従った多重特異性抗体の抗ＴｆＲアームは、キメラ、ヒト化またはヒト抗体を含むモノクローナル抗体である。いくつかの実施形態において、多重特異性抗体は抗体フラグメント、例えばＦｖ、Ｆａｂ、Ｆａｂ’ｆ、ｓｃＦｖ、ディアボディ、または　Ｆ（ａｂ’）$_2$フラグメントである。他の実施形態において、抗体は完全長抗体、例えばインタクトＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３若しくはＩｇＧ４抗体または本明細書で定義する他の抗体クラス若しくはアイソタイプである。

【０１６６】

更なる態様において、上の任意な実施形態に従った抗体は、以下の段落１～７に記載したように、単独に又は組合わせで、任意な特徴を取り込むことができる。

【０１６７】

Ｂ．例となる抗ＢＡＣＥ１抗体

いくつかの実施形態において、抗ＴｆＲ／ＢＡＣＥ１多重特異性抗体を提供する。いくつかの実施形態において、本明細書で提供した抗ＴｆＲ／ＢＡＣＥ１多重特異性抗体はＢＡＣＥ１活性のアロステリック阻害剤である。非限定的な代表的抗ＴｆＲ／ＢＡＣＥ１多重特異性抗体としては、表１に掲げた抗体の重鎖及び軽鎖可変領域を含む抗体が挙げられる。表１に掲げた抗体の重鎖及び軽鎖可変領域をそれぞれ図２３と２４に示す。

表１：抗ＢＡＣＥ１抗体

Ab	Ab	Ab	Ab	Ab	Ab
5531	5572	5893	6290	6311	5987
5586	5536	5887	6291	6309	6303
5583	5571	6275	6293	6310	6266
5532	5883	6279	6289	6308	6271
5592	5890	6276	5747	5990	6297
5878	5891	5888	5982	6307	6294
5874	5892	5894	5985	5931	5932
5875	5884	5543	5983	6298	6313
5876	6272	5643	5984	5930	6314
5880	6270	5644	5986	5988	6315
5881	6273	5896	6296	6299	5933
5260	6274	5902	5897	6300	6285
6288	5539	5903	5905	6305	6280
6266.1	6266.2	6266.3	6266.4	6266.5	6266.6
6266.7	6266.8	6266.9	6266.10	6266.11	6266.12
6266.13	6266.14	6266.15			

【０１６８】

いくつかの実施形態において、本明細書に記載した抗ＢＡＣＥ１抗体は、限定はされないが表１に示した抗体の１つ以上のＨＶＲ、または全６つのＨＶＲを含む抗体を含み、ＢＡＣＥ１活性のアロステリック阻害剤である。いくつかの実施形態において、抗ＢＡＣＥ

１抗体は、表面プラズモン共鳴（ＳＰＲ）で測定されたように、１０ｎＭ、９ｎＭ未満、８ｎＭ未満、７ｎＭ未満、６ｎＭ未満、５ｎＭ未満、４ｎＭ未満または３ｎＭ未満の親和性（$Ｋ_{D}$）でＢＡＣＥ１と結合する。いくつかの実施形態において、抗ＢＡＣＥ１抗体は、表面プラズモン共鳴（ＳＰＲ）によって測定されたように、０．１～１０ｎＭ、または０．１～８ｎＭ、または０．１～７ｎＭ、または０．１～５ｎＭ、または０．５～５ｎＭ、０．１～３ｎＭ　または０．５～３ｎＭの親和性（$Ｋ_{D}$）でＢＡＣＥ１と結合する。いくつかの実施形態において、抗ＢＡＣＥ１抗体は、例えば例９Ｅに記載した解離皮質ニューロン培養アッセイを使用して測定したときに、６０％より大きい、７０％より大きい、７５％より大きい、または８０％より大きい最大のＢＡＣＥ１活性阻害を達成する。

【０１６９】

いくつかの態様において、本発明は、表１に示した抗ＢＡＣＥ１抗体から選択した抗体の少なくとも１つ、２つ、３つ、４つ、５つ、または６つのＨＶＲを含む抗ＢＡＣＥ１アームを含む多重特異性抗体を提供する。図２１及び２２は、それぞれ、それらの各抗体の重鎖及び軽鎖ＨＶＲ配列を示す。いくつかの実施形態において、本発明は、表１に示した抗ＢＡＣＥ１抗体から選択した抗体のＨＶＲ－Ｈ１、ＨＶＲ－Ｈ２、ＨＶＲ－Ｈ３、ＨＶＲ－Ｌ１、ＨＶＲ－Ｌ２及びＨＶＲ－Ｌ３を含む抗ＢＡＣＥ１アームを含む多重特異性抗体を提供する。

【０１７０】

いくつかの実施形態において、当該抗体が、ａ）配列番号１５１～１５６から選択されたＨＶＲ－Ｈ１配列、配列番号１７２～１７５から選択されたＨＶＲ－Ｈ２配列、配列番号２００及び２０１から選択されたＨＶＲ－Ｈ３配列、配列番号２１２及び２１３から選択されたＨＶＲ－Ｌ１配列、配列番号２１９及び２２０から選択されたＨＶＲ－Ｌ２配列、及び配列番号２２５～２２８及び２４８から選択されたＨＶＲ－Ｌ３配列を含む抗ＴｆＲ／ＢＡＣＥ１多重特異性抗体を提供する。いくつかの実施形態において、抗体が、配列番号１５７～１７１、３７６，３８１及び３８２から選択されたＨＶＲ－Ｈ１配列、配列番号１７６～１９９、３７７、３８３及び４０５から選択されたＨＶＲ－Ｈ２配列、配列番号２０２～２１１、３７８、３７９、３８４及び３８５から選択されたＨＶＲ－Ｈ３配列、配列番号２１４～２１８から選択されたＨＶＲ－Ｌ１配列、配列番号２１９～２２４及び３７５から選択されたＨＶＲ－Ｌ２配列、及び配列番号２２９～２４７から選択されたＨＶＲ－Ｌ３配列を含む抗ＴｆＲ／ＢＡＣＥ１多重特異性抗体を提供する。いくつかの実施形態において、抗体が、配列番号１６５、３７６，３８１及び３８２から選択されたＨＶＲ－Ｈ１配列、配列番号１７９、３７７及び３８３から選択されたＨＶＲ－Ｈ２配列、配列番号２０２、３７８、３７９、３８４及び３８５から選択されたＨＶＲ－Ｈ３配列、配列番号２１５のＨＶＲ－Ｌ１配列、配列番号２２１及び３７５から選択されたＨＶＲ－Ｌ２配列、及び配列番号２３０のＨＶＲ－Ｌ３配列を含む抗ＴｆＲ／ＢＡＣＥ１多重特異性抗体を提供する。いくつかの実施形態において、抗体が配列番号１６５のＨＶＲ－Ｈ１、配列番号１７９のＨＶＲ－Ｈ２配列、配列番号２０２のＨＶＲ－Ｈ３配列、配列番号２１５のＨＶＲ－Ｌ１、配列番号２２１のＨＶＲ－Ｌ２配列及び配列番号２３０のＨＶＲ－Ｌ３配列を含む抗ＴｆＲ／ＢＡＣＥ１多重特異性抗体を提供する。いくつかの実施形態において、抗体が、抗体６２６６変異体１－１５から選択した抗体の　ＨＶＲ－Ｈ１、ＨＶＲ－Ｈ２、ＨＶＲ－Ｈ３、ＨＶＲ－Ｌ１、ＨＶＲ－Ｌ２及びＨＶＲ－Ｌ３を含む抗ＴｆＲ／ＢＡＣＥ１多重特異性抗体を提供する。

【０１７１】

いくつかの態様において、本発明は、表１に示した抗ＢＡＣＥ１抗体から選択した抗体の少なくとも１つ、少なくとも２つ、または全３つのＶＨ　ＨＶＲ配列を含む抗ＴｆＲ／ＢＡＣＥ１多重特異性抗体を提供する。いくつかの実施形態において、本発明は、表１に示した抗ＢＡＣＥ１抗体から選択した抗体のＨＶＲ－Ｈ１、ＨＶＲ－Ｈ２及びＨＶＲ－Ｈ３を含む抗ＴｆＲ／ＢＡＣＥ１多重特異性抗体を提供する。いくつかの実施形態において、抗体が、配列番号１５１～１５６から選択したＨＶＲ－Ｈ１配列、配列番号１７２～１７５から選択したＨＶＲ－Ｈ２配列及び配列番号２００～２０１から選択したＨＶＲ－Ｈ

３を含む抗ＴｆＲ／ＢＡＣＥ１多重特異性抗体を提供する。いくつかの実施形態において、抗体が、配列番号１５７～１７１、３７６、３８１及び３８２から選択したＨＶＲ－Ｈ１配列、配列番号１７６～１９９、３７７、３８３及び４０５から選択したＨＶＲ－Ｈ２配列ならびに配列番号２０２～２１１、３７８、３７９、３８４及び３８５から選択したＨＶＲ－Ｈ３配列を含む抗ＴｆＲ／ＢＡＣＥ１多重特異性抗体を提供する。いくつかの実施形態において、抗体が、配列番号１６５、３７６、３８１及び３８２から選択したＨＶＲ－Ｈ１配列、配列番号１７９、３７７及び３８３から選択したＨＶＲ－Ｈ２配列ならびに配列番号２０２、３７８、３７９、３８４及び３８５から選択したＨＶＲ－Ｈ３配列を含む抗ＴｆＲ／ＢＡＣＥ１多重特異性抗体を提供する。いくつかの実施形態において、抗体が、配列番号１６５のＨＶＲ－Ｈ１、配列番号１７９のＨＶＲ－Ｈ２配列及び配列番号２０２のＨＶＲ－Ｈ３配列を含む抗ＴｆＲ／ＢＡＣＥ１多重特異性抗体を提供する。いくつかの実施形態において、抗体が、抗体６２６６変異体１～１５から選択した抗体の　ＨＶＲ－Ｈ１、ＨＶＲ－Ｈ２及びＨＶＲ－Ｈ３を含む抗ＴｆＲ／ＢＡＣＥ１多重特異性抗体を提供する。

【０１７２】

いくつかの態様において、本発明は、表１に示した抗ＢＡＣＥ１抗体から選択した抗体の少なくとも１つ、少なくとも２つ、または全３つのＶＬ　ＨＶＲ配列を含む抗ＴｆＲ／ＢＡＣＥ１多重特異性抗体を提供する。いくつかの実施形態において、本発明は、表１に示した抗ＢＡＣＥ１抗体から選択した抗体のＨＶＲ－Ｌ１、ＨＶＲ－Ｌ２及びＨＶＲ－Ｌ３を含む抗ＴｆＲ／ＢＡＣＥ１多重特異性抗体を提供する。いくつかの実施形態において、抗体が、配列番号２１２及び２１３から選択したＨＶＲ－Ｌ１配列、配列番号２１９及び２２０から選択したＨＶＲ－Ｌ２配列及び配列番号２２５～２２８及び２４８から選択したＨＶＲ－Ｌ３を含む抗ＴｆＲ／ＢＡＣＥ１多重特異性抗体を提供する。いくつかの実施形態において、抗体が、配列番号２１４～２１８から選択したＨＶＲ－Ｌ１配列、配列番号２１９～２２４及び３７５から選択したＨＶＲ－Ｌ２配列ならびに配列番号２２９～２４７から選択したＨＶＲ－Ｌ３を含む抗ＴｆＲ／ＢＡＣＥ１多重特異性抗体を提供する。いくつかの実施形態において、抗体が、配列番号２１５のＨＶＲ－Ｌ１配列、配列番号２２１、２２３または３７５のＨＶＲ－Ｌ２配列及び配列番号２３０のＨＶＲ－Ｌ３配列を含む抗ＴｆＲ／ＢＡＣＥ１多重特異性抗体を提供する。いくつかの実施形態において、抗体が、配列番号２１５のＨＶＲ－Ｌ１配列、配列番号２２１のＨＶＲ－Ｌ２配列及び配列番号２３０のＨＶＲ－Ｌ３配列を含む抗ＴｆＲ／ＢＡＣＥ１多重特異性抗体を提供する。いくつかの実施形態において、抗体が、抗体６２６６変異体１－１５から選択した抗体の　ＨＶＲ－Ｌ１、ＨＶＲ－Ｌ２及びＨＶＲ－Ｌ３を含む抗ＴｆＲ／ＢＡＣＥ１多重特異性抗体を提供する。

【０１７３】

別の態様において、抗ＴｆＲ／ＢＡＣＥ１多重特異性抗体は、表１の抗ＢＡＣＥ１抗体のＶＨに対し、少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性を有する重鎖可変ドメイン（ＶＨ）配列を含む。いくつかの実施形態において、抗ＴｆＲ／ＢＡＣＥ１多重特異性抗体は、配列番号２４９～２９７、３５２～３５８及び３６７～３７４から選択したアミノ酸配列に対し、少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％または１００％の配列同一性を有する重鎖可変ドメイン（ＶＨ）配列を含む。いくつかの実施形態において、抗ＴｆＲ／ＢＡＣＥ１多重特異性抗体は、配列番号２８８、３５２～３５８及び３６７～３７４から選択したアミノ酸配列に対し、少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％または１００％の配列同一性を有する重鎖可変ドメイン（ＶＨ）配列を含む。いくつかの実施形態において、抗ＴｆＲ／ＢＡＣＥ１多重特異性抗体は、配列番号２８８のアミノ酸配列に対し、少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％または１００％の配列同一性を有する重鎖可変ドメイン（ＶＨ）配列を含む。特定の実施形態において、少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４

％、９５％、９６％、９７％、９８％または９９％の同一性を有するＶＨ配列は、参照配列と比較して置換（例えば、保存的置換）、挿入または欠失を有するが、その配列を含む抗ＴｆＲ／ＢＡＣＥ１多重特異性抗体は、ＢＡＣＥ１に結合する能力、及び／またはＢＡＣＥ１活性を阻害または抑制する能力を保持する。特定の実施形態において、配列番号２４９～２９７、３５２～３５８、及び３６７～３７４のいずれか１つで合計１～１０のアミノ酸が置換、挿入及び欠失されている。特定の実施形態において、置換、挿入または欠失がＨＶＲ外側の領域（すなわち、ＦＲ中）で起きる。任意選択で、抗体が以下の配列の翻訳後修飾を含め、配列番号２４９～２９７、３５２～３５８及び３６７～３７４の任意な１つのＶＨ配列を含む。特定な実施形態において、ＶＨが表１に示した抗ＢＡＣＥ１抗体の１つ、２つまたは３つのＨＶＲを含む。いくつかの実施形態において、ＶＨは、配列番号１５１～１５６から選択したＨＶＲ－Ｈ１配列、配列番号１７２～１７５から選択したＨＶＲ－Ｈ２配列及び配列番号２００～２０１から選択したＨＶＲ－Ｈ３配列を含む。いくつかの実施形態において、ＶＨは、配列番号１５７～１７１、３７６、３８１及び３８２から選択したＨＶＲ－Ｈ１配列、配列番号１７６～１９９、３７７、３８３及び４０５から選択したＨＶＲ－Ｈ２配列ならびに配列番号２０２～２１１、３７８、３７９、３８４及び３８５から選択したＨＶＲ－Ｈ３配列を含む。いくつかの実施形態において、ＶＨは、配列番号１６５、３７６、３８１及び３８２から選択したＨＶＲ－Ｈ１配列、配列番号１７９、３７７、及び３８３から選択したＨＶＲ－Ｈ２配列ならびに配列番号２０２、３７８、３７９、３８４及び３８５から選択したＨＶＲ－Ｈ３配列を含む。いくつかの実施形態において、ＶＨは、配列番号１６５のＨＶＲ－Ｈ１、配列番号１７９のＨＶＲ－Ｈ２配列及び配列番号２０２のＨＶＲ－Ｈ３配列を含む。いくつかの実施形態において、ＶＨは、抗体６２６６変異体１－１５から選択した抗体の　ＨＶＲ－Ｈ１、ＨＶＲ－Ｈ２及びＨＶＲ－Ｈ３を含む。

【０１７４】

別の態様において、抗ＴｆＲ／ＢＡＣＥ１多重特異性抗体は、表１の抗ＢＡＣＥ１抗体のＶＬに対し、少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％の配列同一性を有する軽鎖可変ドメイン（ＶＬ）配列を含む。別の態様において、抗体が、配列番号２９８～３２８、３４５～３５１及び３５９～３６６から選択したアミノ酸配列に対し、少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％または１００％の配列同一性を有する軽鎖可変ドメイン（ＶＬ）を含む抗ＴｆＲ／ＢＡＣＥ１多重特異性抗体を提供する。いくつかの実施形態において、抗体が、配列番号３０６、３４５～３５１及び３５９～３６６から選択したアミノ酸配列に対し、少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％または１００％の配列同一性を有する軽鎖可変ドメイン（ＶＬ）を含む抗ＴｆＲ／ＢＡＣＥ１多重特異性抗体を提供する。いくつかの実施形態において、抗体が、配列番号３０６のアミノ酸配列に対し、少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％または１００％の配列同一性を有する軽鎖可変ドメイン（ＶＬ）配列を含む抗ＴｆＲ／ＢＡＣＥ１多重特異性抗体を提供する。特定の実施形態において、少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％または９９％の同一性を有するＶＬ配列は、参照配列と比較して置換（例えば、保存的置換）、挿入または欠失を有するが、その配列を含む抗ＴｆＲ／ＢＡＣＥ１多重特異性抗体は、ＢＡＣＥ１に結合する能力、及び／またはＢＡＣＥ１活性を阻害または抑制する能力を保持する。特定の実施形態において、配列番号２９８～３２８、３４５～３５１、及び３５９～３６６のいずれか１つで合計１～１０のアミノ酸が置換、挿入及び欠失されている。特定の実施形態において、当該置換、挿入または欠失がＨＶＲ外側の領域（すなわち、ＦＲ中）で起きる。任意選択で、抗体が以下の配列の翻訳後修飾を含め、配列番号２９８～３２８、３４５～３５１及び３５９～３６６の任意な１つのＶＬ配列を含む。特定な実施形態において、ＶＬが表１に示した抗ＢＡＣＥ１抗体の１つ、２つまたは３つのＨＶＲを含む。いくつかの実施形態において、ＶＬは、配列番号２１２及び２１３から選択したＨＶＲ－Ｌ１配列、配

列番号２１９及び２２０から選択したＨＶＲ－Ｌ２配列及び配列番号２２５～２２８及び２４８から選択したＨＶＲ－Ｌ３配列を含む。いくつかの実施形態において、ＶＬは、配列番号２１４～２１８から選択したＨＶＲ－Ｌ１配列、配列番号２１９～２２４及び３７５から選択したＨＶＲ－Ｌ２配列、ならびに配列番号２２９～２４７から選択したＨＶＲ－Ｌ３配列を含む。いくつかの実施形態において、ＶＬは、配列番号２１５のＨＶＲ－Ｌ１配列、配列番号２２１、２２３、または３７５のＨＶＲ－Ｌ２配列、及び配列番号２３０のＨＶＲ－Ｌ３配列を含む。いくつかの実施形態において、ＶＬは、配列番号２１５のＨＶＲ－Ｌ１配列、配列番号２２１のＨＶＲ－Ｌ２配列及び配列番号２３０のＨＶＲ－Ｌ３配列を含む。いくつかの実施形態において、ＶＬは、抗体６２６６変異体１～１５から選択した抗体の　ＨＶＲ－Ｌ１、ＨＶＲ－Ｌ２及びＨＶＲ－Ｌ３を含む。

【０１７５】

別の態様においては、抗体が上記に提供した任意の実施形態のようにＶＨを含み、ＶＬが上記に提供した任意な実施形態のようにＶＬを含む抗ＴｆＲ／ＢＡＣＥ１多重特異性抗体を提供する。いくつかの実施形態において、抗体が、配列番号配列番号２４９～２５６から選択したＶＨ配列、及び配列番号２９８～３０２から選択したＶＬ配列を含む抗ＴｆＲ／ＢＡＣＥ１多重特異性抗体を提供する。いくつかの実施形態において、抗体が、配列番号配列番号２５７～２９７、３５２～３５８、及び３６７～３７４から選択したＶＨ配列、ならびに配列番号３０３～３２８、３４５～３５１、及び３５９～３６６から選択したＶＬ配列を含む抗ＴｆＲ／ＢＡＣＥ１多重特異性抗体を提供する。いくつかの実施形態において、抗体が、表１に示した抗ＢＡＣＥ１抗体のＶＨ及びＶＬを含む抗ＴｆＲ／ＢＡＣＥ１多重特異性抗体を提供する。いくつかの実施形態において、抗体が、配列番号配列番号２８８、３５２～３５８、及び３６７～３７４から選択したＶＨ配列、ならびに配列番号３０６、３４５～３５１、及び３５９～３６６から選択したＶＬ配列を含む抗ＴｆＲ／ＢＡＣＥ１多重特異性抗体を提供する。いくつかの実施形態において、抗体は、それらの配列の翻訳後修飾を含め、それぞれ配列番号２８８及び配列番号３０６のＶＨ及びＶＬ配列を含む。いくつかの実施形態において、抗体が、抗体６２６６変異体１～１５から選択した抗体の　ＶＨ及びＶＬを含む抗ＴｆＲ／ＢＡＣＥ１多重特異性抗体を提供する。

【０１７６】

更なる態様において、本発明は、表１に示した抗ＢＡＣＥ１抗体など、本明細書で提供した抗ＢＡＣＥ１抗体と同じエピトープに結合する多重特異性抗体を提供する。例えば、特定の実施形態において、配列番号２４９～２５６から選択したＶＨ配列、及び配列番号２９８～３０２から選択したＶＬ配列を含む抗ＢＡＣＥ１抗体と同じエピトープに結合する抗体を提供する。いくつかの実施形態において、配列番号２５７～２９７、３５２～３５８、及び３６７～３７４から選択したＶＨ配列、ならびに配列番号３０３～３２８、３４５～３５１、及び３５９～３６６から選択したＶＬ配列を含む抗ＢＡＣＥ１抗体と同じエピトープに結合する抗体を提供する。特定の実施形態において、それぞれ配列番号２８８と配列番号３０６のＶＨとＶＬを含む抗ＢＡＣＥ１抗体と同じエピトープに結合する抗体を提供する。

【０１７７】

別の実施形態において、本明細書に記載した任意の抗ＢＡＣＥ１抗体と同様に（例えば、同じエピトープに結合する）結合で競合する多重特異性抗体を提供する。

【０１７８】

本発明の更なる態様において、上の任意な実施形態に従った抗ＴｆＲ／ＢＡＣＥ１多重特異性抗体の抗ＢＡＣＥ１アームは、キメラまたはヒト抗体を含むモノクローナル抗体である。いくつかの実施形態において、抗体は、例えばＦｖ、Ｆａｂ、Ｆａｂ’、ｓｃＦｖ、ディアボディ、または　$F(ab')_2$ フラグメントである。他の実施形態において、抗体は完全長抗体、例えばインタクトＩｇＧ１抗体または本明細書で定義する他の抗体クラスまたはアイソタイプである。

【０１７９】

更なる態様において、上の任意な実施形態に従った抗ＴｆＲ／ＢＡＣＥ１多重特異性抗

体は、以下の段落１～７に記載したように、単独に又は組合わせで、任意な特徴を取り込むことができる。

【０１８０】

１．抗体親和性

特定の実施形態において、本明細書で提供した抗体は、解離定数（Ｋｄ）≦１μＭ、≦１００ｎＭ、１０ｎＭ、１ｎＭ、≦０．１ｎＭ、≦０．０１ｎＭ、または≦０．００１ｎＭ（例えば、10^{-8}Ｍ以下、例えば10^{-8}Ｍ～10^{-13}Ｍ、例えば10^{-9}Ｍ～10^{-13}Ｍ）を有する。

【０１８１】

本発明の特定の実施形態において、本発明の抗ＴｆＲ／ＢＡＣＥ１多重特異性抗体の「低親和性」抗ＴｆＲアームは、例えば、実施例５の結果、ならびに、当該ＴｆＲに対する低親和性抗体がＣＮＳ（例えば、脳）摂取及び／または脳／ＣＮＳ中の持続性の改善を提示することを示すＡｔｗａｌ ｅｔ ａｌ．，Ｓｃｉ．Ｔｒａｎｓｌ．Ｍｅｄ．３，８４ｒａ４３（２０１１）ａｎｄ Ｙｕ ｅｔ ａｌ．，Ｓｃｉ．Ｔｒａｎｓｌ．Ｍｅｄ．２５ Ｍａｙ ２０１１：Ｖｏｌ．３，Ｉｓｓｕｅ ８４，ｐ．８４ｒａ４４に基づいて選択される。前記低親和性抗体を特定するために、種々の抗体親和性を測定する方法が、限定はされないが、スキャッチャードアッセイ及び表面プラズモン共鳴法（例えば、ＢＩＡＣＯＲＥ（登録商標））を含めて利用することができる。本発明のいくつかの実施形態に従って、抗体は、約５ｎＭから、または約２０ｎＭから、または約１００ｎＭから、約５０μＭまで、または約３０μＭまで、または約１０μＭまで、または約１μＭ、または約５００ｎｍまでのヒトまたは霊長類ＴｆＲに対する親和性を有している。従って、親和性は、例えばスキャチャード解析またはＢＩＡＣＯＲＥ（登録商標）で測定された約５ｎＭ～約５０μＭの範囲、または約２０ｎＭ～約３０μＭの範囲、または約３０ｎＭ～約３０μＭの範囲、約５０ｎｍ～約１μＭの範囲、または約１００ｎＭ～約５００ｎＭの範囲とすることができる。本発明の別の実施形態において、抗体は、競合結合分析またはＢＩＡＣＯＲＥで測定された１分未満、２分未満、３分未満、４分未満、５分未満、または１０分未満～約２０分若しくは約３０分のＴｆＲからの解離半減期を有する。

【０１８２】

従って、本発明は、約５ｎＭから、または約２０ｎＭから、または約１００ｎＭから、約５０μＭまで、または約３０μＭまで、または約１０μＭまで、または約１μＭまで、または約５００ｍＭまでの範囲にあるＴｆＲへの親和性をもつためにＴｆＲに対する抗体パネルから抗体を選択することを含め、血液－脳関門を横断して神経障害薬剤を輸送するのに有用な抗体を作製する方法を提供する。従って、親和性は、例えばスキャチャード解析またはＢＩＡＣＯＲＥ（登録商標）で測定された約５ｎＭ～約５０μＭの範囲、または約２０ｎＭ～約３０μＭの範囲、または約３０ｎＭ～約３０μＭの範囲、約５０ｎｍ～約１μＭの範囲、または約１００ｎＭ～約５００ｎＭの範囲とすることができる。異種分子／化合物の抗体への複合体化は、例えば、仮に抗体が抗体の最初の標的より異なる抗原に結合する１つ以上のアームによって多特異性が作られる場合、立体障害に起因してまたは１つの結合アームが除去されても、しばしば標的に対する抗体の親和性を減少させるであろうことを当業者は理解するであろう。いくつかの実施形態において、抗ＢＡＣＥ１と複合体化したＴｆＲに特異的な本発明の低親和性抗体は、ＢＩＡＣＯＲＥで測定したとき、約３０ｎＭのＴｆＲに対するＫｄを有した。別の実施形態において、ＢＡＣＥ１と複合体化したＴｆＲに特異的な本発明の低親和性抗体は、ＢＩＡＣＯＲＥで測定したとき、約６００ｎＭのＴｆＲに対するＫｄを有した。別の実施形態において、ＢＡＣＥ１と複合体化したＴｆＲに特異的な本発明の低親和性抗体は、ＢＩＡＣＯＲＥで測定したとき、約２０μＭのＴｆＲに対するＫｄを有した。別の実施形態において、ＢＡＣＥ１と複合体化したＴｆＲに特異的な本発明の低親和性抗体は、ＢＩＡＣＯＲＥで測定したとき、約３０μＭのＴｆＲに対するＫｄを有した。

【０１８３】

いくつかの実施形態において、Ｋｄを放射線標識抗原結合法（ＲＩＡ）で測定する。い

くつかの実施形態において、ＲＩＡは対象の抗体及びその抗原のＦａｂ変種を使って行う。例えば、抗原に対するＦａｂの溶液結合親和性は、非標識抗原の一連の滴定の存在下、（^{125}Ｉ）－標識抗原の最小濃度でＦａｂを平衡にし、次いで抗Ｆａｂ抗体被覆板を使って結合した抗原を捕獲することによって測定した（例えば、Ｃｈｅｎ　ｅｔ　ａｌ．，Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．２９３：８６５－８８１（１９９９）を参照されたい）。アッセイの条件を確定するために、マイクロタイター（登録商標）マルチウエルプレート（Ｔｈｅｒｍｏ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ）を、５０ｍＭの炭酸ナトリウム（ｐＨ９．６）中、５μｇ／ｍｌの抗Ｆａｂ抗体で一晩被覆（Ｃａｐｐｅｌ　Ｌａｂｓ）し、続いて２～５時間、室温（およそ２３℃）で、ＰＢＳ中、２％（ｗ／ｖ）ウシ血清アルブミンでブロックした。非吸着剤プレート（Ｎｕｎｃ＃２６９６２０））では、１００ｐＭまたは２６ｐＭ［^{125}Ｉ］－抗原を対象Ｆａｂの一連の希釈液と混合する（Ｐｒｅｓｔａ　ｅｔ　ａｌ．，Ｃａｎｃｅｒ　Ｒｅｓ．５７：４５９３－４５９９（１９９７）での抗ＶＥＧＦ抗体、Ｆａｂ－１２の評価に合わせた）。次に、対象のＦａｂを一晩インキュベートするが、インキュベーションは、平衡に到達することを確実にするために、より長い期間（例えば、約６５時間）継続してもよい。その後、混合物を、室温での（例えば、１時間にわたる）インキュベーションのために、キャプチャープレートに移す。次いで、溶液を除去し、プレートをＰＢＳ中、０．１％のポリソルベート２０（ＴＷＥＥＮ－２０（登録商標））で８回洗浄した。プレートを乾燥したときに、１５０μｌ／ウエルのシンチラント（ＭＩＣＲＯＳＣＩＮＴ－２０（商標）；Ｐａｃｋａｒｄ）を加え、プレートをＴＯＰＣＯＵＮＴ（商標）ガンマカウンター（Ｐａｃｋａｒｄ）上で１０分間計数する。最大結合の２０％以下をもたらす各Ｆａｂの濃度を、競合結合アッセイにおいて使用するために選定する。

【０１８４】

いくつかの態様において、ＲＩＡはスキャッチャード解析である。例えば、対象の抗ＴｆＲ抗体は、ラクトペルオキシダーゼ法を使ってヨウ化することができる（Ｂｅｎｎｅｔｔ　ａｎｄ　Ｈｏｒｕｋ，Ｍｅｔｈｏｄｓ　ｉｎ　Ｅｎｚｙｍｏｌｏｇｙ　２８８　ｐｇ．１３４－１４８（１９９７））。放射線標識抗ＴｆＲ抗体を、精製ＮＡＰ－５カラムとその比放射能測定を使用したゲル濾過によって遊離^{125}Ｉ－Ｎａから精製する。一定濃度のヨウ化抗体と低濃度に連続的に希釈した非標識抗体を含む５０μＬの競合反応混合物を９６ウエルプレートに配置する。過渡的にＴｆＲを発現する細胞を、１０％ＦＢＳ、２ｍＭのＬ－グルタミン及び１Ｘペニシリン－ストレプトマイシンを補足したダルベッコ改変イーグル培地（ＤＭＥＭ）（Ｇｅｎｅｎｔｅｃｈ）からなる増殖培地で、５％CO_2中、３７℃で培養する。シグマ細胞解離溶液を使用してシャーレから細胞を取り外し、結合バッファー（１％ウシ血清アルブミンを含むＤＭＥＭ、５０ｍＭのＨＥＰＥＳ、ｐＨ７．２及び、０．２％アジ化ナトリウム）で洗浄する。洗浄細胞を、５０μＬ競合反応混合物を含む９６ウエルプレートに、０．２ｍＬの結合バッファー中に約２００，０００の細胞密度で加える。細胞による競合反応で、非標識抗体の最終濃度は１０００ｎｍで開始し、次いで１０の濃度に対し、１：２倍で濃度を下げて変化させ、またゼロ添加試料、バッファー単独試料を含めた。各濃度の非標識抗体に対し、細胞による競合反応を三連で分析した。細胞による競合反応は、室温で２時間インキュベートする。２－時間のインキュベーション後、競合反応をフィルタープレートに移し、結合バッファーで４回洗浄し、結合のないヨウ化抗体を分離する。フィルターをガンマカウンターで計測し、Ｍｕｎｓｏｎ　ａｎｄ　Ｒｏｄｂａｒｄ（１９８０）の適合アルゴリズムを使って評価し、抗体の親和性を決定する。

【０１８５】

本発明の組成物を使用した例示的なＢＩＡＣＯＲＥ（登録商標）は以下の通りで実施することができる。Ｋｄは、抗ヒトＦｃキットを使用し、２５℃でＢＩＡＣＯＲＥ（登録商標）－２０００（ＢＩＡｃｏｒｅ，Ｉｎｃ．，Ｐｉｓｃａｔａｗａｙ，ＮＪ）を使った表面プラズモン共鳴アッセイによって測定した（ＢｉＡｃｏｒｅ　Ｉｎｃ．，Ｐｉｓｃａｔａｗａｙ，ＮＪ）。簡潔には、供給者の使用説明書に従って、Ｎ－エチル－Ｎ’－（３－ジメチルアミノプロピル）－カルボジイミド塩酸塩（ＥＤＣ）とＮ－ヒドロキシスクシン

イミド（ＮＨＳ）を用いてカルボキシメチル化デキストランバイオセンサチップ（ＣＭ５，ＢＩＡＣＯＲＥ，Ｉｎｃ．）を活性化した。複合体化した蛋白質合の応答単位（ＲＵ）を約１００００にするため、５μｌ／分の流速で注入する前に抗ヒトＦｃ抗体を１０ｍｍの酢酸ナトリウム、ｐＨ４．０で５０μｇ／ｍｌに希釈した。抗体の注射の後、１Ｍのエタノールアミンを注入し未反応群を遮断した。速度論測定では、単一特異性または多特異性抗ＴｆＲ抗体変異体をＨＢＳ－Ｐに注入し、約２２０ＲＵに達し、次いで２倍階段希釈のＭｕＴｆＲ－Ｈｉｓ（０．６１ｎＭ～１５７ｎＭ）を２５℃、約３０μｌ／分の流速でＨＢＳ－Ｐに注入した。会合速度（ｋｏｎ）及び解離速度（ｋｏｆｆ）は、単純一対一ラングミュア結合モデル（ＢＩＡＣＯＲＥ評価ソフトウェアのバージョン３．２）を使用し、会合及び解離センサーグラムを同時にフィッティングして計算した。平衡解離定数（Ｋｄ）は、ｋｏｆｆ／ｋｏｎ比として計算した。例えば、Ｃｈｅｎ　ｅｔ　ａｌ．，Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．２９３：８６５－８８１（１９９９）を参照されたい。

【０１８６】

別の実施形態に従って、Ｋｄは、抗ヒトＦｃキットを使用し、２５℃でＢＩＡＣＯＲＥ（登録商標）２０００装置（ＢＩＡｃｏｒｅ，Ｉｎｃ．，Ｐｉｓｃａｔａｗａｙ，ＮＪ）をも用いた表面プラズモン共鳴アッセイによって測定する（ＢｉＡｃｏｒｅ　Ｉｎｃ．，Ｐｉｓｃａｔａｗａｙ，ＮＪ）。簡潔には、供給者の使用説明書に従って、Ｎ－エチル－Ｎ’－（３－ジメチルアミノプロピル）－カルボジイミド塩酸塩（ＥＤＣ）とＮ－ヒドロキシスクシンイミド（ＮＨＳ）を用いてカルボキシメチル化デキストランバイオセンサチップ（ＣＭ５，ＢＩＡＣＯＲＥ，Ｉｎｃ．）を活性化する。複合体化した蛋白質合の応答単位（ＲＵ）を約１００００にするため、５μｌ／分の流速で注入する前に抗ヒトＦｃ抗体を１０ｍｍの酢酸ナトリウム、ｐＨ４．０で５０μｇ／ｍｌに希釈する。抗体の注入の後、１Ｍのエタノールアミンを注入し未反応群を遮断する。速度論測定では、抗ＴｆＲ抗体変異体をＨＢＳ－Ｐに注入し、約２２０ＲＵに達し、次いで２倍階段希釈のＴｆＲ－Ｈｉｓ（０．６１ｎＭ～１５７ｎＭ）を２５℃、約３０μｌ／分の流速でＨＢＳ－Ｐに注入する。会合速度（ｋｏｎ）及び解離速度（ｋｏｆｆ）は、単純一対一ラングミュア結合モデル（ＢＩＡＣＯＲＥ（登録商標）評価ソフトウェアのバージョン３．２）を使用し、会合及び解離センサーグラムを同時にフィッティングして計算する。平衡解離定数（Ｋｄ）は、比率ｋｏｆｆ／ｋｏｎとして算出する。例えば、Ｃｈｅｎ　ｅｔ　ａｌ．，Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．２９３：８６５－８８１（１９９９）を参照されたい。

【０１８７】

所定の化合物のＩＣ５０を決定する幾つかの方法が当該技術分野では公知であり、一般的な手法は、本明細書で記載するような競合結合測定を実行することである。一般に、高ＩＣ５０は、公知のリガンドの結合を阻害するためにはより多くの抗体が必要でり、従って抗原に対する抗体の親和性が相対的に小さいことを示す。逆に、低ＩＣ５０は、公知のリガンドの結合を阻害するために必要とされる抗体がより少なく、従って抗原に対する抗体の親和性が相対的に大きいことを示す。

【０１８８】

ＩＣ５０を測定するための代表的競合ＥＬＩＳＡ法は、抗ＴｆＲまたは抗ＴｆＲ／脳抗原（すなわち、抗ＴｆＲ／ＢＡＣＥ１）変異抗体の濃度を増加させて使用し、ＴｆＲへの結合でビオチン化既知抗ＴｆＲ抗体と競合させる方法である。抗ＴｆＲ競合ＥＬＩＳＡを、一晩、４℃でＰＢＳ中、２．５μｇ／ｍｌの精製マウスＴｆＲ細胞外で被覆したマキシソーププレート（Ｎｅｐｔｕｎｅ，Ｎ．Ｊ．）で行った。プレートをＰＢＳ／０．０５％のＴｗｅｅｎ２０で洗浄し、ＰＢＳ（Ｔｈｅｒｍｏ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ，Ｈｕｄｓｏｎ，ＮＨ）中、ＳｕｐｅｒＢｌｏｃｋ　ブロッキングバッファーを使用してブロック化した。各個別の抗ＴｆＲまたは抗ＴｆＲ／脳抗原（すなわち、抗ＴｆＲ／ＢＡＣＥ１）（１：３連続希釈）の滴定で、プレートに添加したビオチン化既知抗ＴｆＲ（０．５ｎＭの最終濃度）と、室温で１時間、結合させた。プレートをＰＢＳ／０．０５％Ｔｗｅｅｎ２０で洗浄し、ＨＲＰ－ストレプトアビジン（Ｓｏｕｔｈｅｒｎ　Ｂｉｏｔｅｃｈ，Ｂｉｒｍｉｎｇｈａｍ）をプレートに加えて、室温で１時間保温した。プレートをＰＢＳ／０．０

５％Ｔｗｅｅｎ２０で洗浄し、プレートに結合したビオチン化抗ＴｆＲ抗体をＴＭＢ基質（ＢｉｏＦＸ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ，Ｏｗｉｎｇｓ　Ｍｉｌｌｓ）を使って検出した。

【０１８９】

２．抗体断片

ある特定の実施形態において、本明細書に提供される抗体は、抗体断片である。抗体フラグメントとしては、限定はされないが、Ｆａｂ、Ｆａｂ’、Ｆａｂ’－ＳＨ、Ｆ（ａｂ’）$_2$、Ｆｖ、及びｓｃＦｖフラグメント、ならびに下に記載する他のフラグメントが挙げられる。特定の抗体フラグメントの概要に関しては、Ｈｕｄｓｏｎ　ｅｔ　ａｌ．Ｎａｔ．Ｍｅｄ．９：１２９－１３４（２００３）を参照されたい。ｓｃＦｖフラグメントの概要に関しては、例えばＰｌｕｃｋｔｈｕｎ，ｉｎ　Ｔｈｅ　Ｐｈａｒｍａｃｏｌｏｇｙ　ｏｆ　Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ　Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ，ｖｏｌ．１１３，Ｒｏｓｅｎｂｕｒｇ　ａｎｄ　Ｍｏｏｒｅ　ｅｄｓ．，（Ｓｐｒｉｎｇｅｒ－Ｖｅｒｌａｇ，Ｎｅｗ　Ｙｏｒｋ），ｐｐ．２６９－３１５（１９９４）を参照、また　国際公開第　９３／１６１８５号、及び米国特許第５，５７１，８９４号及び　同５，５８７，４５８号を参照されたい。エピトープ残基に結合し、インビボ半減期を増加させるサルベージ受容体を含むＦａｂ及びＦ（ａｂ’）$_2$フラグメントの考察に関しては、米国特許第５，８６９，０４６号を参照されたい。

【０１９０】

ダイアボディは、二価性または二重特異性であり得る、２つの抗原結合部位を有する抗体断片である。例えば、ＥＰ　４０４，０９７；国際公開第１９９３／０１１６１号；Ｈｕｄｓｏｎ　ｅｔ　ａｌ．，Ｎａｔ．Ｍｅｄ．９：１２９－１３４（２００３）；及びＨｏｌｌｉｎｇｅｒ　ｅｔ　ａｌ．，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ　９０：　６４４４－６４４８（１９９３）を参照されたい。３量体及び４量体もＨｕｄｓｏｎ　ｅｔ　ａｌ．，Ｎａｔ．Ｍｅｄ．９：１２９－１３４（２００３）に記載されている。

【０１９１】

単一ドメイン抗体は、抗体の重鎖可変ドメインの全てもしくは一部分または軽鎖可変ドメインの全てもしくは一部分を含む、抗体断片である。ある特定の実施形態において、単一ドメイン抗体はヒト単一ドメイン抗体である（Ｄｏｍａｎｔｉｓ，Ｉｎｃ．，Ｗａｌｔｈａｍ，ＭＡ；例えば、米国特許第６，２４８，５１６　Ｂ１号を参照のこと）。

【０１９２】

抗体フラグメントは、限定はされないが、インタクト抗体の蛋白質分解ならびに組換え型宿主細胞による製造を含む種々の手法でつくることができる。

【０１９３】

３．キメラおよびヒト化抗体

ある特定の実施形態において、本明細書に提供される抗体は、キメラ抗体である。特定のキメラ抗体は、例えば米国特許第４，８１６，５６７号、及びＭｏｒｒｉｓｏｎ　ｅｔ　ａｌ．，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ，８１：６８５１－６８５５（１９８４）に記載されている。一例において、キメラ抗体は、非ヒト可変領域（例えば、マウス、ラット、ハムスター、ウサギ、またはサル等の非ヒト霊長類に由来する可変領域）およびヒト定常領域を含む。本明細書での対象のキメラ抗体は、非ヒト霊長類（例えば、ヒヒ、赤毛猿またはカニクイザルなどの旧世界ザル）由来の可変ドメイン抗原結合配列とヒト定常領域配列を含む「霊長類化（ｐｒｉｍａｔｉｚｅｄ）」抗体を含む（米国特許第５，６９３，７８０号）。さらなる実施例において、キメラ抗体は、クラスまたはサブクラスが親抗体のそれから変更された、「クラススイッチされた」抗体である。キメラ抗体には、それらの抗原結合断片が含まれる。

【０１９４】

ある特定の実施形態において、キメラ抗体は、ヒト化抗体である。典型的に、非ヒト抗体は、親の非ヒト抗体の特異性および親和性を保持しながら、ヒトに対する免疫原性を低

減するために、ヒト化される。一般に、ヒト化抗体は、ＨＶＲ、例えば、ＣＤＲ（またはそれらの部分）が非ヒト抗体に由来し、ＦＲ（またはそれらの部分）がヒト抗体配列に由来する、１つ以上の可変ドメインを含む。任意にヒト化抗体はまた、ヒト定常領域の少なくとも一部分も含む。いくつかの実施形態において、ヒト化抗体におけるいくつかのＦＲ残基は、例えば、抗体特異性または親和性を復元するまたは改善するために、非ヒト抗体（例えば、ＨＶＲ残基が由来する抗体）由来の対応する残基で置換される。

【０１９５】

ヒト化抗体及びそれらを作製する方法は、例えば ｉｎ Ａｌｍａｇｒｏ及びＦｒａｎｓｓｏｎ，Ｆｒｏｎｔ．Ｂｉｏｓｃｉ．１３：１６１９－１６３３（２００８）で概説されており、更に、例えばＲｉｅｃｈｍａｎｎ ｅｔ ａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ ３３２：３２３－３２９（１９８８）；Ｑｕｅｅｎ ｅｔ ａｌ．，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔ’ｌ Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ８６：１００２９－１００３３（１９８９）；米国特許第５、８２１，３３７号、７，５２７，７９１号、６，９８２，３２１号及び７，０８７，４０９号、及び７，０８７，４０９号；Ｋａｓｈｍｉｒｉ ｅｔ ａｌ．，Ｍｅｔｈｏｄｓ ３６：２５－３４（２００５）（特異性決定領域（ＳＤＲ）グラフトを記載）；Ｐａｄｌａｎ，Ｍｏｌ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．２８：４８９－４９８（１９９１）（「リサーフェシング（ｒｅｓｕｒｆａｃｉｎｇ）」を記載）；Ｄａｌｌ’Ａｃｑｕａ ｅｔ ａｌ．，Ｍｅｔｈｏｄｓ ３６：４３－６０（２００５）（「ＦＲシャッフリング（ｓｈｕｆｆｌｉｎｇ）」を記載）；Ｏｓｂｏｕｒｎ ｅｔ ａｌ．，Ｍｅｔｈｏｄｓ ３６：６１－６８（２００５）及びＫｌｉｍｋａ ｅｔ ａｌ．，Ｂｒ．Ｊ．Ｃａｎｃｅｒ，８３：２５２－２６０（２０００）（「Ｇｕｉｄｅｄ Ｓｅｌｅｃｔｉｏｎ」手法からＦＲシャッフリングまで記載）に記載されている。

【０１９６】

ヒト化に使用することができるヒトフレームワーク領域としては、限定はされないが、「最適合」法（例えば、Ｓｉｍｓ ｅｔ ａｌ．Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１５１：２２９６（１９９３）を参照）を使用して選択されたフレームワーク領域；軽鎖または重鎖可変領域の特定のサブグループのヒト抗体のコンセンサス配列に由来するフレームワーク領域（例えば、Ｃａｒｔｅｒ ｅｔ ａｌ．Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ，８９：４２８５（１９９２）参照）；ヒト成熟（体細胞変異）フレームワーク領域またはヒト生殖細胞系フレームワーク領域（例えば、Ａｌｍａｇｒｏ ａｎｄ Ｆｒａｎｓｓｏｎ，Ｆｒｏｎｔ．Ｂｉｏｓｃｉ．１３：１６１９－１６３３（２００８）を参照）；ＦＲライブラリーのスクリーニングから誘導したフレームワーク領域（例えば、Ｂａｃａ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．２７２：１０６７８－１０６８４（１９９７）ａｎｄ Ｒｏｓｏｋ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．２７１：２２６１１－２２６１８（１９９６）を参照）。

【０１９７】

４．ヒト抗体

ある特定の実施形態において、本明細書に提供される抗体は、ヒト抗体である。ヒト抗体は、当該技術分野において既知の種々の技法を使用して生成され得る。ヒト抗体は、一般にｖａｎ Ｄｉｊｋ ａｎｄ ｖａｎ ｄｅ Ｗｉｎｋｅｌ，Ｃｕｒｒ．Ｏｐｉｎ．Ｐｈａｒｍａｃｏｌ．５： ３６８－７４（２００１）及びＬｏｎｂｅｒｇ，Ｃｕｒｒ．Ｏｐｉｎ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．２０：４５０－４５９（２００８）の中で記載されている。

【０１９８】

ヒト抗体は、免疫原を、抗原投与に応答してインタクトなヒト抗体またはヒト可変領域を含むインタクトな抗体を産生するように修飾されたトランスジェニック動物に投与することによって、調製されてもよい。かかる動物は典型的に、内因性免役グロブリン遺伝子座を置き換える、または染色体外に存在するか、もしくは動物の染色体中に無作為に組み込まれる、ヒト免役グロブリン遺伝子座の全てまたは一部分を含有する。かかるトランスジェニックマウスにおいて、内因性免役グロブリン遺伝子座は一般に、不活性化されている。トランスジェニック動物からヒト抗体を得るための方法の概説については、Ｎａｔ．

Ｂｉｏｔｅｃｈ．２３：１１１７－１１２５（２００５）を参照されたい。また、米国特許第６，０７５，１８１号及び同第６，１５０，５８４号（ＸＥＮＯＭＯＵＳＥ（商標）技術について説明する）、米国特許第５，７７０，４２９号（ＨＵＭＡＢ（登録商標）技術について説明する）、米国特許第７，０４１，８７０号（Ｋ－Ｍ ＭＯＵＳＥ（登録商標）技術について説明する）、ならびに米国特許出願公開第ＵＳ ２００７／００６１９００号（ＶｅｌｏｃｉＭｏｕｓｅ（登録商標）技術について説明する）も参照されたい。かかる動物によって生成されるインタクトな抗体由来のヒト可変領域は、例えば、異なるヒト定常領域と組み合わせることによって、さらに修飾されてもよい。

【０１９９】

ヒト抗体はまた、ハイブリドーマベースの方法によって作製することもできる。ヒトモノクローナル抗体の産生のためのヒト骨髄腫細胞株およびマウス－ヒトヘテロ骨髄腫細胞株が記載されている。（例えば、Ｋｏｚｂｏｒ Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．，１３３：３００１（１９８４）；Ｂｒｏｄｅｕｒ ｅｔ ａｌ．，Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ Ａｎｔｉｂｏｄｙ Ｐｒｏｄｕｃｔｉｏｎ Ｔｅｃｈｎｉｑｕｅｓ ａｎｄ Ａｐｐｌｉｃａｔｉｏｎｓ，ｐｐ．５１－６３（Ｍａｒｃｅｌ Ｄｅｋｋｅｒ，Ｉｎｃ．，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ，１９８７）；及びＢｏｅｒｎｅｒ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．，１４７：８６（１９９１）を参照）。ヒトＢ細胞ハイブリドーマ技術で生成したヒト抗体はＬｉ ｅｔ ａｌ．，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ，１０３：３５５７－３５６２（２００６）に記載されている。追加的方法は、例えば米国特許第７，１８９，８２６号（ハイブリドーマ細胞株からのモノクローナルヒトＩｇＭ抗体の作製を記載）及びＮｉ，Ｘｉａｎｄａｉ Ｍｉａｎｙｉｘｕｅ，２６（４）：２６５－２６８（２００６）（ヒト－ヒトハイブリドーマを記載）に記載された方法を含む。ヒトハイブリドーマ技法（Ｔｒｉｏｍａ技法）は、Ｖｏｌｌｍｅｒｓ ａｎｄ Ｂｒａｎｄｌｅｉｎ，Ｈｉｓｔｏｌｏｇｙ ａｎｄ Ｈｉｓｔｏｐａｔｈｏｌｏｇｙ，２０（３）：９２７－９３７（２００５）及び Ｖｏｌｌｍｅｒｓ ａｎｄ Ｂｒａｎｄｌｅｉｎ，Ｍｅｔｈｏｄｓ ａｎｄ Ｆｉｎｄｉｎｇｓ ｉｎ Ｅｘｐｅｒｉｍｅｎｔａｌ ａｎｄ Ｃｌｉｎｉｃａｌ Ｐｈａｒｍａｃｏｌｏｇｙ，２７（３）：１８５－９１（２００５）にも記載されている。

【０２００】

ヒト抗体はまた、Ｆｖクローン可変ドメイン配列をヒト由来ファージディスプレイライブラリーから単離することによって、生成されてもよい。かかる可変ドメイン配列は次いで、所望のヒト定常ドメインと組み合わされてもよい。抗体ライブラリーからヒト抗体を選択するための技法が、下に記載される。

【０２０１】

５．ライブラリー由来抗体

本発明の抗体は、コンビナトリアルライブラリーを、所望の活性（単数または複数）を有する抗体についてスクリーニングすることによって、単離されてもよい。例えば、ファージディスプレイライブラリーを生成し、かかるライブラリーを、所望の結合特性を保有する抗体についてスクリーニングするための、多様な方法が当該技術分野で知られている。そのような方法は、例えばＨｏｏｇｅｎｂｏｏｍ ｅｔ ａｌ．ｉｎ Ｍｅｔｈｏｄｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ １７８：１－３７（Ｏ’Ｂｒｉｅｎ ｅｔ ａｌ．，ｅｄ．，Ｈｕｍａｎ Ｐｒｅｓｓ，Ｔｏｔｏｗａ，ＮＪ，２００１）に概説されており、更に、例えばＭｃＣａｆｆｅｒｔｙ ｅｔ ａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ ３４８：５５２－５５４；Ｃｌａｃｋｓｏｎ ｅｔ ａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ ３５２：６２４－６２８（１９９１）；Ｍａｒｋｓ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．２２２：５８１－５９７（１９９２）；Ｍａｒｋｓ ａｎｄ Ｂｒａｄｂｕｒｙ，ｉｎ Ｍｅｔｈｏｄｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ ２４８：１６１－１７５（Ｌｏ，ｅｄ．，Ｈｕｍａｎ Ｐｒｅｓｓ，Ｔｏｔｏｗａ，ＮＪ，２００３）；Ｓｉｄｈｕ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．３３８（２）：２９９－３１０（２００４）；Ｌｅｅ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．３４０（５）：１０７３－１０９３（２００４）；Ｆｅｌｌｏｕｓｅ，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ １０１（

３４）：１２４６７－１２４７２（２００４）；ａｎｄ Ｌｅｅ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．Ｍｅｔｈｏｄｓ ２８４（１－２）：１１９－１３２（２００４）に記載されている。

【０２０２】

ある特定のファージディスプレイ法では、ＶＨ及びＶＬ遺伝子のレパートリーがファージディスプレイライブラリーでのポリメラーゼ連鎖反応（ＰＣＲ）及びランダムな組替えによって別々にクローン化され、次いでＷｉｎｔｅｒ ｅｔ ａｌ．，Ａｎｎ．Ｒｅｖ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．，１２：４３３－４５５（１９９４）に記載されているように抗原結合ファージをスクリーニングすることができる。ファージは典型的に、１本鎖Ｆｖ（ｓｃＦｖ）断片としてまたはＦａｂ断片としてのいずれかで、抗体断片を提示する。免疫された源からのライブラリーは、ハイブリドーマを構築する必要なしに、免疫原に対する高親和性抗体を提供する。あるいは、Ｇｒｉｆｆｉｔｈｓ ｅｔ ａｌ．，ＥＭＢＯ Ｊ，１２：７２５－７３４（１９９３）に記載されているように、ナイーブレパートリーをクローン化（例えばヒトから）し、任意の免疫化なしで単一の抗体源を広範囲な非自己及び自己抗原にも提供することができる。最後に、Ｈｏｏｇｅｎｂｏｏｍ ａｎｄ Ｗｉｎｔｅｒ，Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．，２２７：３８１－３８８（１９９２）に記載されているように、ナイーブレパートリーは、高度可変ＣＤＲ３領域をコード化するため、及びインビトロで再配列を達成するために、幹細胞から再配列されていないＶ遺伝子セグメントをクローニングすることによって、またランダム配列を含むＰＣＲプライマーを使用して合成的に作製することもできる。例えば、ヒト抗体ファージライブラリーを記載した特許公報として、米国特許第５，７５０，３７３号、及び米国特許公報第２００５／００７９５７４号、２００５／０１１９４５５号、２００５／０２６６０００号、２００７／０１１７１２６号、２００７／０１６０５９８号、２００７／０２３７７６４号、２００７／０２９２９３６号、及び２００９／０００２３６０号が挙げられる。

【０２０３】

ヒト抗体ライブラリーから単離された抗体または抗体断片は、本明細書でヒト抗体またはヒト抗体断片と見なされる。

【０２０４】

６．多重特異性抗体

ある特定の実施形態において、本明細書に提供される抗体は、多重特異性抗体、例えば、二重特異性抗体である。多重特異性抗体は、少なくとも２つの異なる部位に対する結合特異性を有する、モノクローナル抗体である。特定の実施形態において、結合特異性の１つはＴｆＲに対するものであり、他はＢＡＣＥ１に対するものである。二重特異性抗体を使用して、ＴｆＲを発現する細胞に細胞毒性薬を局在させることもできる。二重特異性抗体は、完全長抗体または抗体断片として調製することができる。

【０２０５】

多重特異性抗体を作製する技法としては、限定はされないが、異なる特異性を有する２つの免疫グロブリン重鎖－軽鎖対の組換え体共発現（Ｍｉｌｓｔｅｉｎ ａｎｄ Ｃｕｅｌｌｏ，Ｎａｔｕｒｅ ３０５：５３７（１９８３）、国際公開第９３／０８８２９号、及びＴｒａｕｎｅｃｋｅｒ ｅｔ ａｌ．，ＥＭＢＯ Ｊ．１０：３６５５（１９９１）を参照）、及び「ｋｎｏｂ－ｉｎ－ｈｏｌｅ」操作（例えば、米国特許第５，７３１，１６８号を参照）が挙げられる。多重特異性抗体は、抗体Ｆｃヘテロ二量体分子の作製のための操作静電ステアリング効果（国際公開第２００９／０８９００４Ａ１号）；２つまたはそれ以上の抗体またはフラグメントの架橋（例えば米国特許第４，６７６，９８０号、及びＢｒｅｎｎａｎ ｅｔ ａｌ．，Ｓｃｉｅｎｃｅ，２２９：８１（１９８５）を参照）；二重特異性抗体を産生するロイシンジッパーの使用（例えば、Ｋｏｓｔｅｌｎｙ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．，１４８（５）：１５４７－１５５３（１９９２）を参照）；二重特異性抗体フラグメントを作製するための「２量体」技術の使用（例えば、Ｈｏｌｌｉｎｇｅｒ ｅｔ ａｌ．，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ，９０：６４４４－６４４８（１９９３）を参照）；単鎖Ｆｖ（ｓＦｖ）二量体

の使用（例えばＧｒｕｂｅｒ　ｅｔ　ａｌ．，Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．，１５２：５３６８（１９９４）を参照）；及び例えばＴｕｔｔ　ｅｔ　ａｌ．Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１４７：　６０（１９９１）に記載されている三重特異性抗体の調製によって作製することもできる。

【０２０６】

「オクトパス抗体」または「二重可変ドメイン免疫グロブリン」を含め、３つまたはそれ以上の機能抗原結合部位をもつ改変抗体も本明細書に含まれる（例えばＵＳ　２００６／００２５５７６Ａ１，ａｎｄ　Ｗｕ　ｅｔ　ａｌ．Ｎａｔｕｒｅ　Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ（２００７）を参照）。

【０２０７】

本明細書での抗体またはフラグメントとして、ＴｆＲならびに他の異なる抗原（ＢＡＣＥ１など）に結合する抗原結合部位を含む「二重作用Ｆａｂ」または「ＤＡＦ」も挙げられる（例えばＵＳ２００８／００６９８２０を参照）。

【０２０８】

本発明のいくつかの実施形態に従って、「カップリング」は、多特異的抗体（例えば二重特異性抗体）を生成することで達成される。多重特異性抗体は、少なくとも２つの異なる抗原またはエピトープに対して結合特異性を持つモノクローナル抗体である。いくつかの実施形態において、多重特異性抗体は、ＴｆＲに結合する第一抗原結合部位及び脳抗原（ベーターセクレターゼ１（ＢＡＣＥ１）またはＡｂｅｔａ、及び本明細書で開示した他の脳抗原など）に結合する第二抗原結合部位を含む。

【０２０９】

前記の多特異性／二重特異性抗体が結合した例示的な脳抗原はＢＡＣＥ１であり、ＢＡＣＥ１に結合する例示的な抗体は、本明細書の表１に示した抗体（抗体６２６６など）である。

【０２１０】

ノブ・イントゥ・ホール（Ｋｎｏｂ－ｉｎｔｏ－Ｈｏｌｅ）

多重特異性抗体の作製方法としてのノブ・イントゥ・ホール（Ｋｎｏｂ－ｉｎｔｏ－Ｈｏｌｅ）の使用は、例えば米国特許第５，７３１，１６８号、国際公開第２００９／０８９００４号、ＵＳ２００９／０１８２１２７、ＵＳ２０１１／０２８７００９、Ｍａｒｖｉｎ　ａｎｄ　Ｚｈｕ，Ａｃｔａ　Ｐｈａｒｍａｃｏｌ．Ｓｉｎ．（２００５）２６（６）：６４９－６５８、及び　Ｋｏｎｔｅｒｍａｎｎ（２００５）Ａｃｔａ　Ｐｈａｒｍａｃｏｌ．Ｓｉｎ．，２６：１－９．に記載されている。簡潔な非限定的考察が、以下に提供される。

【０２１１】

「突起」は、ヘテロ多量体を安定化させ、それにより、例えば、ホモ多量体形成よりもヘテロ多量体形成を優先するように、第１のポリペプチドの界面から突出し、従って隣接する界面（すなわち、第２のポリペプチドの界面）にある相補的空洞内に位置付けることが可能な、少なくとも１つのアミノ酸側鎖を指す。突起は原型の接触面に存在してもよく、または合成的に導入することができる。いくつかの実施形態では、第１のポリペプチドの界面をコードする核酸を、突起をコードするように変化させる。これを達成するために、第１のポリペプチドの界面にある少なくとも１つの「原型」アミノ酸残基をコードする核酸が、原型アミノ酸残基よりも大きな側鎖体積を有する少なくとも１つの「移入」アミノ酸残基をコードする核酸で置換される。１つを上回る元の残基及び対応する移入残基が存在し得ることが、理解されよう。様々なアミノ残基の側鎖体積は、例えば、米国公開第２０１１／０２８７００９号の表１に示されている。「突起」を導入するための変異は、「ノブ変異」と称される場合がある。

【０２１２】

いくつかの実施形態において、突起の形成のための移入残基は、アルギニン（Ｒ）、フェニルアラニン（Ｆ）、チロシン（Ｙ）、及びトリプトファン（Ｗ）から選択される天然のアミノ酸残基である。いくつかの実施形態では、移入残基は、トリプトファンまたはチ

ロシンである。ある実施形態では、突起の形成のための元の残基は、アラニン、アスパラギン、アスパラギン酸、グリシン、セリン、スレオニン、またはバリンのように、小さな側鎖体積を有する。

【０２１３】

「空洞」は、第２のポリペプチドの界面から凹んでおり、従って隣接する第１のポリペプチドの界面上の対応する突起を収容する、少なくとも１つのアミノ酸側鎖を指す。空洞は、元々の界面内に存在してもよく、または、合成による（例えば、界面をコードする核酸を変化させることによって）導入してもよい。いくつかの実施形態では、第２のポリペプチドの界面をコードする核酸を、空洞をコードするように変化させる。これを達成するために、第２のポリペプチドの界面にある少なくとも１つの「原型」アミノ酸残基をコードする核酸が、原型アミノ酸残基よりも小さな側鎖体積を有する少なくとも１つの「移入」アミノ酸残基をコードするＤＮＡで置換される。１つを上回る元の残基及び対応する移入残基が存在し得ることが、理解されよう。いくつかの実施形態では、空洞の形成のための移入残基は、アラニン（Ａ）、セリン（Ｓ）、スレオニン（Ｔ）、及びバリン（Ｖ）から選択される天然のアミノ酸残基である。いくつかの実施形態では、移入残基は、セリン、アラニン、またはスレオニンである。いくつかの実施形態では、空洞の形成のための元の残基は、チロシン、アルギニン、フェニルアラニン、またはトリプトファンのように、大きな側鎖体積を有する。「空洞」を導入するための変異は、「ホール変異」と称される場合がある。

【０２１４】

突起は空洞内に「位置付けることが可能」であり、これは、それぞれ第１のポリペプチド及び第２のポリペプチドの界面上の突起及び空洞の空間的位置、ならびに突起及び空洞の大きさが、界面における第１及び第２のポリペプチドの正常な会合を著しく乱すことなく突起が空洞内に位置し得るようなものであることを意味する。Ｔｙｒ、Ｐｈｅ、及びＴｒｐなどの突起は、典型的には界面の軸から直角に伸びず、好ましい立体構造を有しないため、対応する空洞との突起のアライメントは、いくつかの事例では、Ｘ線結晶学または核磁気共鳴（ＮＭＲ）によって得られるものといった三次元構造に基づく突起／空洞対のモデリングに依存しし得る。これは、当該技術分野で広く許容されている技法を使用して達成することができる。

【０２１５】

いくつかの実施形態において、ＩｇＧ１定常領域のノブ変異ははＴ３６６Ｗである。いくつかの実施形態において、ＩｇＧ１定常領域のホール変異は、Ｔ３６６Ｓ、Ｌ３６８Ａ及びＹ４０７Ｖから選択された１つ以上の変異を含む。いくつかの実施形態において、ＩｇＧ１定常領域のホール変異は、Ｔ３６６Ｓ、Ｌ３６８Ａ及びＹ４０７Ｖを含む。配列番号３９１及び３９３はノブ変異をもつ例示的なＩｇＧ１定常領域（本明細書で考察した、ＬＡＬＡＰＧ及びＬＡＬＡＰＧ．ＹＴＥに加えて）を示す。配列番号３９０及び３９２はノブ変異をもつ例示的なＩｇＧ１定常領域（本明細書で考察した、ＬＡＬＡＰＧ及びＬＡＬＡＰＧ．ＹＴＥに加えて）を示す。

【０２１６】

いくつかの実施形態において、ＩｇＧ４定常領域のノブ変異ははＴ３６６Ｗである。いくつかの実施形態において、ＩｇＧ４定常領域のホール変異は、Ｔ３６６Ｓ、Ｌ３６８Ａ及びＹ４０７Ｖから選択された１つ以上の変異を含む。いくつかの実施形態において、ＩｇＧ４定常領域のホール変異は、Ｔ３６６Ｓ、Ｌ３６８Ａ及びＹ４０７Ｖを含む。

【０２１７】

７．抗体変異体

ある特定の実施形態において、本明細書に提供される抗体のアミノ酸配列変異形が企図される。例えば、抗体の結合親和性および／または他の生物学的特性を改善することが望ましいことがある。抗体のアミノ酸配列変異形は、適切な修飾を、抗体をコードするヌクレオチド配列中に導入することによって、またはペプチド合成によって、調製されてもよい。かかる修飾には、例えば、抗体のアミノ酸配列からの残基の欠失、および／またはそ

こへ残基の挿入、および／またはその内の残基の置換が含まれる。欠失、挿入、および置換の任意の組み合わせを作製して、最終構築物に到達することができるが、但し、その最終構築物が、所望の特性、例えば、抗原結合性を保有することを条件とする。

【０２１８】

ａ）置換、挿入、および欠失変異形

ある特定の実施形態において、１つ以上のアミノ酸置換を有する抗体変異形が提供される。置換型突然変異生成に対する目的の部位には、ＨＶＲおよびＦＲが含まれる。保存的置換は「好ましい置換」の項目の下で表２に示す。より実質的な変化は、表２において、「例示的な置換」の見出しの下に提供され、またアミノ酸側鎖クラスを参照して以下でさらに説明される。アミノ酸置換が目的の抗体中に導入され、産物が、所望の活性、例えば、保持／改善された抗原結合、減少した免疫原性、または改善されたＡＤＣＣもしくはＣＤＣについて、スクリーニングされてもよい。

表２

元の残基	例示的置換	好ましい置換
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; Norleucine	Leu
Leu (L)	Norleucine; 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; Norleucine	Leu

【０２１９】

アミノ酸は、次の一般的な側鎖特性に従って分類されてもよい：

（１）疎水性：ノルロイシン、Ｍｅｔ、Ａｌａ、Ｖａｌ、Ｌｅｕ、Ｉｌｅ、

（２）中性親水性：Ｃｙｓ、Ｓｅｒ、Ｔｈｒ、Ａｓｎ、Ｇｌｎ、

（３）酸性：Ａｓｐ、Ｇｌｕ、

（４）塩基性：Ｈｉｓ、Ｌｙｓ、Ａｒｇ、

（５）鎖配向に影響を及ぼす残基：Ｇｌｙ、Ｐｒｏ、

（６）芳香族：Ｔｒｐ、Ｔｙｒ、Ｐｈｅに従ってグループ化することができる。

【０２２０】

非保存的置換は、これらのクラスのうちの１つのメンバーを別のクラスと交換すること

を伴うであろう。

【０２２１】

置換変異体の一つのタイプは、親抗体（例えばヒト化またはヒト抗体）の１つ以上の超可変領域残基を置換することを含む。一般に、さらなる研究のために選択される、結果として生じる変異形（複数可）は、親抗体と比べて、ある特定の生物学的特性における修飾（例えば、改善）（例えば、増加した親和性、低減された免疫原性）を有することになり、および／または親抗体の、実質的に保持されたある特定の生物学的特性を有することになる。例となる置換型変異形は、例えば、本明細書に記載されるもの等のファージディスプレイベースの親和性成熟技法を使用して、好都合に生成され得る、親和性成熟抗体である。簡潔には、１個以上のＨＶＲ残基が突然変異させられ、変異形抗体がファージ上で提示され、特定の生物活性（例えば、結合親和性）についてスクリーニングされる。

【０２２２】

変化（例えば、置換）をＨＶＲにおいて行って、例えば、抗体親和性を改善してもよい。かかる変異はＨＶＲ「ホットスポット」（すなわち体細胞成熟過程（例えば、Ｃｈｏｗｄｈｕｒｙ，Ｍｅｔｈｏｄｓ　Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．２０７：１７９－１９６（２００８）を参照）の間に高頻度で突然変異を受けるコドンによってコード化される残基）及び／または結合親和性の試験対象の得られた変異体ＶＨまたはＶＬと抗原が接触する残基で作ることができる。二次ライブラリーからの構築及び再選択による親和性変異は、例えば　Ｈｏｏｇｅｎｂｏｏｍ　ｅｔ　ａｌ．ｉｎ　Ｍｅｔｈｏｄｓ　ｉｎ　Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｂｉｏｌｏｇｙ　１７８：１－３７（Ｏ’Ｂｒｉｅｎ　ｅｔ　ａｌ．，ｅｄ．，Ｈｕｍａｎ　Ｐｒｅｓｓ，Ｔｏｔｏｗａ，ＮＪ，（２００１））に記載されている。親和性成熟のいくつかの実施形態において、多様性が、多様な方法（例えば、エラープローンＰＣＲ、鎖シャフリング、またはオリゴヌクレオチド指向性突然変異生成）のうちのいずれかによって、成熟のために選定された可変遺伝子中に導入される。次いで、二次ライブラリーを作製する。次いでライブラリーをスクリーニングし、所望の親和性を有する任意の抗体変異形を特定した。多様性を導入するための別の方法は、数個のＨＶＲ残基（例えば、１回に４～６個の残基）が無作為化される、ＨＶＲ指向性アプローチを伴う。抗原結合に関与するＨＶＲ残基は、例えば、アラニンスキャニング突然変異生成またはモデリングを使用して、具体的に特定されてもよい。特にＣＤＲ－Ｈ３およびＣＤＲ－Ｌ３が、しばしば標的とされる。

【０２２３】

ある特定の実施形態において、置換、挿入、または欠失は、かかる変化が、抗原に結合する抗体の能力を実質的に低減しない限り、１つ以上のＨＶＲ内で生じてもよい。例えば、結合親和性を実質的に低減しない保存的変化（例えば、本明細書に提供される保存的置換）が、ＨＶＲにおいて行われてもよい。かかる変異が、例えばＨＶＲの抗原接触残基の外側にあってもよい。上に提供される変異形ＶＨおよびＶＬ配列のある特定の実施形態において、各ＨＶＲは、変化させられないか、またはわずか１つ、２つ、もしくは３つを超えないアミノ酸置換を含有するかのいずれかである。

【０２２４】

変異誘発で標的にすることができる抗体の残基または領域の有用な特定方法は、Ｃｕｎｎｉｎｇｈａｍ　ａｎｄ　Ｗｅｌｌｓ（１９８９）Ｓｃｉｅｎｃｅ，２４４：１０８１－１０８５に記載される「アラニンスキャニング突然変異誘起」と呼ばれる。この方法において、標的残基（例えば、ａｒｇ、ａｓｐ、ｈｉｓ、ｌｙｓ、およびｇｌｕ等の荷電残基）のうちのある残基または基が特定され、中性または負荷電アミノ酸（例えば、アラニンまたはポリアラニン）によって置き換えられて、抗体の抗原との相互作用が影響を受けるかどうかを決定する。さらなる置換が、最初の置換に対する機能的感受性を示すアミノ酸の場所に導入されてもよい。代替的に、または追加的に、抗体と抗原との間の接触点を特定するための抗原－抗体複合体の結晶構造である。かかる接触残基および隣接する残基は、置換の候補として標的とされるか、または排除されてもよい。変異形をスクリーニングして、それらが所望の特性を含有するかどうかを決定してもよい。

【０２２５】
アミノ酸配列挿入には、１個の残基から１００個以上の残基を含有するポリペプチドの範囲の長さである、アミノ末端および／またはカルボキシル末端融合、ならびに単一のまたは多数のアミノ酸残基の配列内（ｉｎｔｒａｓｅｑｕｅｎｃｅ）挿入が含まれる。末端挿入の例としては、Ｎ末端メチオニル残基を有する抗体が挙げられる。抗体分子の他の挿入型変異形には、抗体の血清半減期を増加させる酵素（例えば、ＡＤＥＰＴのための）またはポリペプチドに対する抗体のＮ末端もしくはＣ末端への融合が含まれる。
【０２２６】
ｂ）グリコシル化変異形
ある特定の実施形態において、本明細書に提供される抗体は、抗体がグリコシル化される程度を増加または減少させるように変化させられる。抗体へのグリコシル化部位の付加または欠失は、１つ以上のグリコシル化部位が作り出されるか、または除去されるように、アミノ酸配列を変化させることによって、好都合に遂行されてもよい。
【０２２７】
抗体がＦｃ領域を含む場合、そこに結合した炭水化物が変化させられてもよい。哺乳類細胞によって産生される天然抗体は、典型的に、一般にＮ－結合によって、Ｆｃ領域のＣＨ２ドメインのＡｓｎ２９７に結合される、分岐した二分岐オリゴ糖を含む。例えば、Ｗｒｉｇｈｔ ｅｔ ａｌ．ＴＩＢＴＥＣＨ １５：２６－３２（１９９７）を参照されたい。オリゴ糖類には、種々の炭水化物、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、ならびに二分岐オリゴ糖類構造の「ステム」においてＧｌｃＮＡｃに結合したフコースが含まれる。いくつかの実施形態において、本発明の抗体におけるオリゴ糖の修飾は、ある特定の特性が改善された抗体変異形を作成するために行われてもよい。
【０２２８】
いくつかの実施形態において、Ｆｃ領域に結合（直接的または間接的）したフコースが不足する炭水化物構造を持つ抗体変異体を提供する。例えば、かかる抗体におけるフコースの量は、１％～８０％、１％～６５％、５％～６５％、または２０％～４０％であってもよい。フコースの量は、例えば、国際公開第 ２００８／０７７５４６号に記載されるように、ＭＡＬＤＩ－ＴＯＦ質量分析法によって測定するとき、Ａｓｎ ２９７に結合した全ての糖鎖構造（例えば、複合体、ハイブリッド、および高マンノース構造）の合計と比べた、Ａｓｎ２９７における糖鎖内のフコースの平均量を算出することによって決定される。Ａｓｎ２９７は、Ｆｃ領域における約２９７位（Ｆｃ領域残基のＥｕ付番）に位置するアスパラギン残基を指すが、Ａｓｎ２９７はまた、抗体における小規模な配列変異に起因して、２９７位から約±３アミノ酸上流または下流、すなわち、２９４位～３００位の間にも位置する。かかるフコシル化変異形は、改善されたＡＤＣＣ機能を有し得る。例えば、米国特許公開第ＵＳ ２００３／０１５７１０８号（Ｐｒｅｓｔａ，Ｌ．）；同ＵＳ ２００４／００９３６２１号（Ｋｙｏｗａ Ｈａｋｋｏ Ｋｏｇｙｏ Ｃｏ．，Ｌｔｄ）を参照されたい。脱フコシル化または「フコース欠損」抗体変異体に関連した公報の例として、ＵＳ ２００３／０１５７１０８；国際公開第 ２０００／６１７３９号；国際公開第 ２００１／２９２４６号；ＵＳ ２００３／０１１５６１４；ＵＳ ２００２／０１６４３２８；ＵＳ ２００４／００９３６２１；ＵＳ ２００４／０１３２１４０；ＵＳ ２００４／０１１０７０４；ＵＳ ２００４／０１１０２８２；ＵＳ ２００４／０１０９８６５；国際公開第 ２００３／０８５１１９号；国際公開第 ２００３／０８４５７０号；国際公開第 ２００５／０３５５８６号；国際公開第 ２００５／０３５７７８号；国際公開第２００５／０５３７４２号；国際公開第２００２／０３１１４０号；Ｏｋａｚａｋｉ ｅｔ ａｌ．Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．３３６：１２３９－１２４９（２００４）；Ｙａｍａｎｅ－Ｏｈｎｕｋｉ ｅｔ ａｌ．Ｂｉｏｔｅｃｈ．Ｂｉｏｅｎｇ．８７： ６１４（２００４）が挙げられる。脱フコシル化抗体を産生することができる細胞株の例として、蛋白質フコシル化に欠陥があるＬｅｃ１３ ＣＨＯ細胞（Ｒｉｐｋａ ｅｔ ａｌ．Ａｒｃｈ．Ｂｉｏｃｈｅｍ．Ｂｉｏｐｈｙｓ．２４９：５３３－５４５（

１９８６）；米国特許出願番号ＵＳ２００３／０１５７１０８Ａ１，Ｐｒｅｓｔａ，Ｌ；及び具体的には実施例１１で国際公開第２００４／０５６３１２Ａ１号、Ａｄａｍｓ　ｅｔ　ａｌ．）及びノックアウト細胞株、例えばアルファ－１，６－フコシル基転移酵素遺伝子、ＦＵＴ８ノックアウトＣＨＯ細胞（例えば、Ｙａｍａｎｅ－Ｏｈｎｕｋｉ　ｅｔ　ａｌ．Ｂｉｏｔｅｃｈ．Ｂｉｏｅｎｇ．８７：　６１４（２００４）；Ｋａｎｄａ，Ｙ．ｅｔ　ａｌ．，Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ．Ｂｉｏｅｎｇ．，９４（４）：６８０－６８８（２００６）；及び国際公開第２００３／０８５１０７号を参照）が挙げられる。

【０２２９】

二分されたオリゴ糖類を有する、例えば、抗体のＦｃ領域に結合した二分岐オリゴ糖類がＧｌｃＮＡｃによって二分される、抗体変異形がさらに提供される。かかる抗体変異形は、低減されたフコシル化および／または改善されたＡＤＣＣ機能を有し得る。かかる抗体変異体の例としては、例えば国際公開第　２００３／０１１８７８号（Ｊｅａｎ－Ｍａｉｒｅｔ　ｅｔ　ａｌ．）；米国特許第６，６０２，６８４号（Ｕｍａｎａ　ｅｔ　ａｌ．）に記載されている。Ｆｃ領域に結合したオリゴ糖類において少なくとも１個のガラクトース残基を有する、抗体変異形もまた提供される。かかる抗体変異形は、改善されたＣＤＣ機能を有し得る。かかる抗体変異体は、例えば国際公開第１９９７／３００８７号（Ｐａｔｅｌ　ｅｔ　ａｌ．）；国際公開第１９９８／５８９６４号（Ｒａｊｕ，Ｓ．）；及び国際公開第１９９９／２２７６４号（Ｒａｊｕ，Ｓ．）に記載されている。

【０２３０】

ｃ）Ｆｃ領域変異形

ある特定の実施形態において、１つ以上のアミノ酸修飾が、本明細書に提供される抗体のＦｃ領域に導入され、それによってＦｃ領域変異形を生成してもよい。Ｆｃ領域変異体は、１つ以上のアミノ酸位置でアミノ酸修飾（例えば置換）を含むヒトＦｃ領域配列（例えば、ヒトＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３またはＩｇＧ４　Ｆｃ領域）を含むことができる。

【０２３１】

ある特定の実施形態において、本発明は、全部ではなく一部のエフェクター機能を有する抗体変異体を意図しており、当該抗体変異体が、インビボでの抗体半減期は重要だが、ある特定のエフェクター機能（例えば、補体及びＡＤＣＣ）が不要または有害な応用での所望の候補になる。インビトロ及び／またはインビボ細胞毒性アッセイを実行し、ＣＤＣ及び／またはＡＤＣＣ活性の減少／欠失を確認することができる。例えば、抗体がＦｃｇＲ結合を欠く（それ故に、ＡＤＣＣ活性を欠く可能性がある）ことを確保するためＦｃ受容体（ＦｃＲ）結合アッセイを実行することができる。ＡＤＣＣ、ＮＫ細胞を仲介する初代細胞はＦｃ(ＲＩＩＩだけを発現するの対し、単核細胞はＦｃ(ＲＩ、Ｆｃ(ＲＩＩ及びＦｃ(ＲＩＩＩを発現する。造血性細胞上のＦｃＲ発現は、Ｒａｖｅｔｃｈ　ａｎｄ　Ｋｉｎｅｔ，Ａｎｎｕ．Ｒｅｖ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．９：４５７－４９２（１９９１）の４６４ページの表３に要約されている。対象分子のＡＤＣＣ活性を評価するためのインビトロアッセイの非限定例は、米国特許第５，５００，３６２号（例えばＨｅｌｌｓｔｒｏｍ，Ｉ．ｅｔ　ａｌ．Ｐｒｏｃ．Ｎａｔ’ｌ　Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ　８３：７０５９－７０６３（１９８６）を参照）、及び　Ｈｅｌｌｓｔｒｏｍ，Ｉ　ｅｔ　ａｌ．，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔ’ｌ　Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ　８２：１４９９－１５０２（１９８５）；５，８２１，３３７（Ｂｒｕｇｇｅｍａｎｎ，Ｍ．ｅｔ　ａｌ．，Ｊ．Ｅｘｐ．Ｍｅｄ．１６６：１３５１－１３６１（１９８７）を参照）に記載されている。あるいは、非放射性分析法（例えば、フローサイトメトリーのためのＡＣＴＩ（商標）非放射性細胞毒性アッセイ（ＣｅｌｌＴｅｃｈｎｏｌｏｇｙ，Ｉｎｃ．Ｍｏｕｎｔａｉｎ　Ｖｉｅｗ，ＣＡ）；及びＣｙｔｏＴｏｘ　９６（登録商標）非放射性細胞毒性アッセイ　（Ｐｒｏｍｅｇａ，Ｍａｄｉｓｏｎ，ＷＩ）を用いることができる。かかるアッセイに有用なエフェクター細胞には、末梢血単核細胞（ＰＢＭＣ）およびナチュラルキラー細胞が含まれる。別の方法では、又はその上、対象分子のＡＤＣＣ活性はインビボ、例えば、Ｃｌｙｎｅｓ　ｅｔ　ａｌ．Ｐｒｏｃ．Ｎａｔ’ｌ　Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ　９５：６５２－６５６（

１９９８）に開示されているような動物モデルで評価することができる。Ｃ１ｑ結合アッセイをまた行って、抗体がＣ１ｑに結合不可能であり、よってＣＤＣ活性を欠いていることを確認してもよい。例えば、国際公開第２００６／０２９８７９号および国際公開第２００５／１００４０２号におけるＣ１ｑおよびＣ３ｃ結合ＥＬＩＳＡを参照されたい。補体活性化を評価するために、ＣＤＣアッセイを実行することができる（例えば、Ｇａｚｚａｎｏ－Ｓａｎｔｏｒｏ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．Ｍｅｔｈｏｄｓ ２０２：１６３（１９９６）；Ｃｒａｇｇ，Ｍ．Ｓ．ｅｔ ａｌ．，Ｂｌｏｏｄ １０１：１０４５－１０５２（２００３）；及びＣｒａｇｇ，Ｍ．Ｓ．ａｎｄ Ｍ．Ｊ．Ｇｌｅｎｎｉｅ，Ｂｌｏｏｄ １０３：２７３８－２７４３（２００４）を参照）。ＦｃＲｎ結合及び生体内クリアランス／半減期の決定は当該技術分野で公知な方法を使用して実施することもできる（例えば、Ｐｅｔｋｏｖａ，Ｓ．Ｂ．ｅｔ ａｌ．，Ｉｎｔ’ｌ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１８（１２）：１７５９－１７６９（２００６）を参照）。

【０２３２】

減少したエフェクター機能をもつ抗体の非限定例としては、１つ以上のＦｃ領域残基２３８、２６５、２６９、２７０、２９７、３２７及び３２９（米国特許第６，７３７，０５６号）の置換を含む抗体が挙げられる。かかるＦｃ突然変異体には、アラニンへの残基２６５および２９７の置換を有するいわゆる「ＤＡＮＡ」Ｆｃ突然変異体を含む（米国特許第７，３３２，５８１号）、アミノ酸２６５、２６９、２７０、２９７、および３２７位のうちの２つ以上において置換を有するＦｃ突然変異体が含まれる。

【０２３３】

ＦｃＲへの改善されたまたは減少した結合を有する、ある特定の抗体変異形が記載される。ＦｃＲへの結合が改善または縮小した特定の抗体変異体が記載されている （例えば、米国特許第６，７３７，０５６号；国際公開第 ２００４／０５６３１２号、及びＳｈｉｅｌｄｓ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．９（２）： ６５９１－６６０４（２００１）を参照）。

【０２３４】

ある特定の実施形態において、抗体変異形は、ＡＤＣＣを改善する１つ以上のアミノ酸置換、例えば、Ｆｃ領域の２９８、３３３、および／または３３４位（残基のＥＵ付番）における置換を有する、Ｆｃ領域を含む。

【０２３５】

いくつかの実施形態において、例えば米国特許第６，１９４，５５１号、国際公開第９９／５１６４２号及びＩｄｕｓｏｇｉｅ ｅｔ ａｌ．Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１６４：４１７８－４１８４（２０００）に記載されているように、変化をＦｃ領域に作り、その結果、Ｃ１ｑ結合及び／又は補体依存性細胞傷害（ＣＤＣ）に変化（すなわち、改善又は縮小）が生じる。

【０２３６】

半減期が増加した抗体、及び胎児への母親ＩｇＧの移動（Ｇｕｙｅｒ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１１７：５８７（１９７６）及びＫｉｍ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．２４：２４９（１９９４））に関与する新生児Ｆｃ受容体（ＦｃＲｎ）結合が改善した抗体は、ＵＳ２００５／００１４９３４Ａ１（Ｈｉｎｔｏｎ ｅｔ ａｌ．）に記載されている。これらの抗体は、ＦｃＲｎに対するＦｃ領域の結合性を向上させる１つ以上の置換を内部に有するＦｃ領域を含む。かかる非限定Ｆｃ変異体として、Ｆｃ領域残基：２３８、２５６、２６５、２７２、２８６、３０３、３０５、３０７、３１１、３１２、３１７、３４０、３５６、３６０、３６２、３７６、３７８、３８０、３８２、４１３、４２４又は４３４の１つ以上に置換を有するものが挙げられる（例えばＦｃ領域残基４３４の置換、米国特許第７，３７１，８２６号）

【０２３７】

Ｄｕｎｃａｎ ＆ Ｗｉｎｔｅｒ，Ｎａｔｕｒｅ ３２２：７３８－４０（１９８８）、米国特許第５，６４８，２６０号、米国特許第５，６２４，８２１号及びＦｃ領域変異体の他の例に関する国際公開第 ９４／２９３５１号も参照されたい。

【０２３８】
ｄ）システイン操作による抗体変異体
ある特定の実施形態において、抗体の１個以上の残基がシステイン残基で置換されている、システイン操作された抗体、例えば、「チオＭａｂ」を作り出すことが望ましい場合がある。特定の実施形態において、置換残基は、抗体の利用しやすい部位において生じる。それらの残基をシステインで置換することによって、反応性のチオール基はそれによって、抗体の利用しやすい部位に位置付けられ、それを使用して、抗体を、薬物部分またはリンカー－薬物部分等の他の部分に複合して、本明細書にさらに記載される、免疫複合体を作り出してもよい。ある特定の実施形態において、１つ以上の下記残基、軽鎖のＶ２０５（Ｋａｂａｔ番号付け）、重鎖のＡ１１８（ＥＵ番号付け）、及び重鎖Ｆｃ領域のＳ４００（ＥＵ番号付け）をシステインで置換することができる。システイン操作抗体は、例えば米国特許第７，５２１，５４１号に記載されているように作製することができる。
【０２３９】
ｅ）抗体誘導体
ある特定の実施形態において、本明細書に提供される抗体は、当該技術分野で既知であり、容易に入手可能な、追加の非タンパク質性部分を含有するようにさらに修飾されてもよい。抗体の誘導体化に好適な部分には、水溶性ポリマーが含まれるが、これらに限定されない。水溶性ポリマーの非限定的な例としては、ポリエチレングリコール（ＰＥＧ）、エチレングリコール／プロピレングリコールのコポリマー、カルボキシメチルセルロース、デキストラン、ポリビニルアルコール、ポリビニルピロリドン、ポリ－１，３－ジオキソラン、ポリ－１，３，６－トリオキサン、エチレン／無水マレイン酸コポリマー、ポリアミノ酸（ホモポリマーまたはランダムコポリマーのいずれか）、およびデキストランまたはポリ（ｎ－ビニルピロリドン）ポリエチレングリコール、プロプロピレン（ｐｒｏｐｒｏｐｙｌｅｎｅ）グリコールホモポリマー、プロリプロピレン（ｐｒｏｌｙｐｒｏｐｙｌｅｎｅ）オキシド／エチレンオキシドコポリマー、ポリオキシエチル化ポリオール（例えば、グリセロール）、ポリビニルアルコール、ならびにそれらの混合物が挙げられるが、これらに限定されない。ポリエチレングリコールプロピオンアルデヒドは、水中でのその安定性に起因して、製造における利点を有し得る。ポリマーは、任意の分子量のものであってもよく、分岐していても非分岐であってもよい。抗体に結合したポリマーの数は、様々であってもよく、１つを超えるポリマーが結合される場合、それらは、同じ分子または異なる分子であり得る。一般に、誘導体化に使用されるポリマーの数および／または種類は、改善対象の抗体の特定の特性または機能、抗体誘導体が規定の条件下で療法において使用されるかどうか等を含むが、これらに限定されない考慮に基づいて、決定することができる。
【０２４０】
別の実施形態において、放射線への曝露によって選択的に加熱され得る、抗体および非タンパク質性部分の複合体が提供される。いくつかの実施形態において、非蛋白性部分はカーボンナノチューブ（Ｋａｍ ｅｔ ａｌ．，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ １０２： １１６００－１１６０５（２００５））である。放射線は、任意の波長のものであってもよく、一般の細胞を害さないが、非タンパク質性部分を、抗体－非タンパク質性部分に近位の細胞が死滅させられる温度まで加熱する波長が含まれるが、これらに限定されない。
【０２４１】
Ｃ．組み換え法および組成物
抗体は、例えば、米国特許第４，８１６，５６７号に記載された組換え方法と組成物を使用して作製することができる。いくつかの実施形態において、本明細書に記載した抗ＴｆＲ／ＢＡＣＥ１多重特異性抗体をコード化する単離した核酸を提供する。かかる核酸は、抗体のＶＬを含むアミノ酸配列および／またはＶＨを含むアミノ酸配列（例えば、抗体の軽鎖および／または重鎖）をコードし得る。さらなる実施形態において、かかる核酸を含む１つ以上のベクター（例えば、発現ベクター）が提供される。さらなる実施形態にお

いて、かかる核酸を含む宿主細胞が提供される。１つのかかる実施形態において、宿主細胞は、（１）抗体のＶＬを含むアミノ酸配列および抗体のＶＨを含むアミノ酸配列をコードする核酸を含むベクター、または（２）抗体のＶＬを含むアミノ酸配列をコードする核酸を含む第１のベクター、および抗体のＶＨを含むアミノ酸配列をコードする核酸を含む第２のベクターを含む（例えば、それらで形質転換されている）。いくつかの実施形態において、宿主細胞は真核生物、例えばチャイニーズハムスター卵巣（ＣＨＯ）細胞又はリンパ系細胞（例えば、Ｙ０、ＮＳ０、Ｓｐ２０細胞）である。いくつかの実施形態において、抗ＴｆＲ／ＢＡＣＥ１多重特異性抗体の作製方法を提供し、当該方法は、抗体の発現、及び任意選択で宿主細胞（または宿主細胞培地）から抗体を回収するのに好適な条件下、上で提供したように、抗体をコード化する核酸を含む宿主細胞を培養することを含む。

【０２４２】

いくつかの実施形態において、多重特異性抗体を作製する方法を提供し、当該方法は、抗体の発現、及び任意選択で宿主細胞から多重特異性抗体を回収するのに好適な条件下、多重特異性抗体をコード化する核酸を含む宿主細胞を培養することを含む。いくつかの実施形態において、多重特異性抗体を作製する方法を提供し、当該方法は、第１のＶＨ／ＶＬユニットの発現に好適な条件下、多重特異性抗体の第１のＶＨ／ＶＬユニット（仮にあれば、時々「ヘミマー（ｈｅｍｉｍｅｒ）」、「半抗体」又は「アーム」と称される定常領域を含む）をコード化する核酸を含む第１の宿主細胞を培養する、及び第２のＶＨ／ＶＬユニットの発現に好適な条件下、多重特異性抗体の第２のＶＨ／ＶＬユニットをコード化する核酸を含む第２の宿主細胞を培養する、ならびに任意選択で、宿主細胞（又は宿主細胞培地）から第２のＶＨ／ＶＬユニットを回収することを含む。いくつかの実施形態において、方法は更に、単離した第１のＶＨ／ＶＬユニット及び単離した第２のＶＨ／ＶＬユニットから多特異的抗体を組立てることを備える。かかる組立ては、いくつかの実施形態において、２つのＶＨ／ＶＬユニット（又はｈｅｍｉｍｅｒ）間の分子内ジスルフィドを形成する酸化還元段階を含むことができる。多特異的抗体を製作する非限定例示的方法は、例えばＵＳ２０１１／０２８７００９、ＵＳ２００７／０１９６３６３、ＵＳ２００７／０１７８５５２、米国特許第５，７３１，１６８号、国際公開第　９６／０２７０１１号、国際公開第　９８／０５０４３１号、及びＺｈｕ　ｅｔ　ａｌ．，１９９７，Ｐｒｏｔｅｉｎ　Ｓｃｉｅｎｃｅ　６：７８１－７８８に記載されている。非限定例示的方法が下記の例にも記載されている。

【０２４３】

抗ＴｆＲ／ＢＡＣＥ１多特異的抗体の組換え体作製に関して、例えば先に述べたような抗体をコードする核酸を単離し、宿主細胞での更なるクローニング及び／又は発現のための１つ以上のベクターに挿入する。かかる核酸は、慣例の手順を使用して（例えば、抗体の重鎖および軽鎖をコードする遺伝子に特異的に結合可能である、オリゴヌクレオチドプローブを使用することによって）、容易に単離され、配列決定され得る。

【０２４４】

抗体コードベクターのクローニングまたは発現に好適な宿主細胞には、本明細書に記載される原核細胞または真核細胞が含まれる。例えば、抗体は、特にグリコシル化およびＦｃエフェクター機能が必要とされない場合に、細菌において産生されてもよい。細菌での抗体フラグメント及びポリペプチドの発現に関して、例えば米国特許第５，６４８，２３７号、５，７８９，１９９号及び５，８４０，５２３号を参照されたい。（また、大腸菌における抗体断片の発現を記載する、Ｃｈａｒｌｔｏｎ，Ｍｅｔｈｏｄｓ　ｉｎ　Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｂｉｏｌｏｇｙ，Ｖｏｌ．２４８（Ｂ．Ｋ．Ｃ．Ｌｏ，ｅｄ．，Ｈｕｍａｎａ　Ｐｒｅｓｓ，Ｔｏｔｏｗａ，ＮＪ，２００３），ｐｐ．２４５－２５４も参照）。発現後、抗体を可溶性画分で細菌細胞ペーストから単離し、更に精製することができる。

【０２４５】

原核生物に加えて、糸状菌または酵母等の真核微生物は、抗体コードベクターに好適なクローニングまたは発現宿主であり、それには、グリコシル化経路が「ヒト化」されており、部分的または完全ヒトグリコシル化パターンを有する抗体の産生をもたらす、真菌お

よび酵母株が含まれる。Ｇｅｒｎｇｒｏｓｓ，Ｎａｔ．Ｂｉｏｔｅｃｈ．２２：１４０９－１４１４（２００４），ａｎｄ Ｌｉ ｅｔ ａｌ．，Ｎａｔ．Ｂｉｏｔｅｃｈ．２４：２１０－２１５（２００６）を参照されたい。

【０２４６】

グリコシル化抗体の発現に好適な宿主細胞はまた、多細胞生物（無脊椎動物および脊椎動物）にも由来する。無脊椎動物細胞の例としては、植物および昆虫細胞が挙げられる。特にツマジロクサヨトウＳｐｏｄｏｐｔｅｒａ ｆｒｕｇｉｐｅｒｄａ細胞の形質移入では、多数のバキュロウイルス株が昆虫細胞と共に使用できることが確認されている。

【０２４７】

植物細胞培養も宿主として利用することができる。米国特許第５，９５９，１７７号、６，０４０，４９８号、６，４２０，５４８号、７，１２５，９７８号及び６，４１７，４２９号（トランスジェニック植物で抗体を作製するためのＰＬＡＮＴＩＢＯＤＩＥＳ（商標）技術を記載）を参照されたい。

【０２４８】

脊椎動物細胞もまた、宿主として使用され得る。例えば、懸濁液中で成長するように適合される哺乳類細胞株が、有用であり得る。有用な哺乳類宿主細胞の他の例は、ＳＶ４０（ＣＯＳ－７）で形質転換したサル腎臓のＣＶ１系統；ヒト胎児由来腎臓系統（例えばＧｒａｈａｍ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｇｅｎ Ｖｉｒｏｌ．３６：５９（１９７７）に記載された２９３又は２９３系統）；ベビーハムスター腎臓細胞；マウスセルトリ細胞（例えばＭａｔｈｅｒ，Ｂｉｏｌ．Ｒｅｐｒｏｄ．２３：２４３－２５１（１９８０）に記載されたＴＭ４細胞）；サル腎細胞（ＣＶ１）、アフリカミドリザル腎臓細胞（ＶＥＲＯ－７６）；ヒト子宮頸癌細胞（ＨＥＬＡ）；イヌ腎臓細胞（ＭＤＣＫ）；ＢＲＬ（Ｂｕｆｆａｌｏ Ｒａｔ Ｌｉｖｅｒ）細胞（ＢＲＬ ３Ａ）；ヒト肺細胞（Ｗ１３８）；ヒト肝臓細胞（Ｈｅｐ Ｇ２）；マウス乳腺腫瘍（ＭＭＴ ０６０５６２）；例えばＭａｔｈｅｒ ｅｔ ａｌ．，Ａｎｎａｌｓ Ｎ．Ｙ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．３８３：４４－６８（１９８２）に記載のＴＲＩ細胞；ＭＲＣ ５細胞；及びＦＳ４細胞である。他の有用な哺乳類宿主細胞株として、チャイニーズハムスターの卵巣（ＣＨＯ）細胞、ＤＨＦＲ－ ＣＨＯ細胞（Ｕｒｌａｕｂ ｅｔ ａｌ．，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ７７：４２１６（１９８０））及び例えばＹ０、ＮＳ０とＳｐ２／０などの骨髄腫細胞株が挙げられる。抗体産生に好適なある特定の哺乳類宿主細胞株の解説に関しては、例えばＹａｚａｋｉ ａｎｄ Ｗｕ，Ｍｅｔｈｏｄｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ，Ｖｏｌ．２４８（Ｂ．Ｋ．Ｃ．Ｌｏ，ｅｄ．，Ｈｕｍａｎａ Ｐｒｅｓｓ，Ｔｏｔｏｗａ，ＮＪ），ｐｐ．２５５－２６８（２００３）を参照されたい。

【０２４９】

Ｄ．アッセイ

本明細書で提供した抗ＴｆＲ／ＢＡＣＥ１多重特異性抗体は、当該技術分野で公知な様々なアッセイによって物理的／化学的性質及び／又は生物活性に関して、同定、スクリーニング、又は特徴づけることができる。

【０２５０】

１．結合アッセイ及び他のアッセイ

抗体のＴｆＲ及び／又はＢＡＣＥ１との結合の決定に関して様々な技術が利用できる。１つのかかるアッセイは、ヒトＴｆＲ及び／又はＢＡＣＥ１と結合する能力を確認するための酵素結合免疫測定法（ＥＬＩＳＡ）である。このアッセイに従って、抗原（例えば、組換え体ＴｆＲ 又はＢＡＣＥ１）で被覆したプレートを、抗体を含む試料とインキュベートし、抗体の対象抗原との結合を測定する。

【０２５１】

いくつかの態様において、本発明の抗体を抗原結合活性について、例えばＥＬＩＳＡ、ウエスタンブロットなどの公知な方法によって試験する。

【０２５２】

別の態様において、競合アッセイを使用して、ＴｆＲ及び／又はＢＡＣＥ１との結合で

本発明の任意な抗体と競合する抗体を同定する。ある特定の実施形態において、かかる競合抗体は、本発明の任意な抗体が結合する同じエピトープ（例えば、直線状エピトープ又は立体構造エピトープ）、より具体的には、本明細書に記載したクラスＩ、クラスＩＩ、クラスＩＩＩ又はクラスＩＶの抗体が特異的に結合するあらゆるエピトープに結合する（例えば実施例１を参照）。抗体が結合するエピトープをマッピングする詳細な例示的方法は、Ｍｅｔｈｏｄｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ ｖｏｌ．６６（Ｈｕｍａｎａ Ｐｒｅｓｓ，Ｔｏｔｏｗａ，ＮＪ）のＭｏｒｒｉｓ（１９９６）「Ｅｐｉｔｏｐｅ Ｍａｐｐｉｎｇ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ」で提供される。

【０２５３】

例示的競争アッセイでは、固定化ＴｆＲ又はＢＡＣＥ１（すなわち、抗原）を、第１の標識抗体（例えば、本明細書で開示した１つ以上の抗体）と、抗原との結合で第１の抗体と競合する能力が試験される第２の非標識抗体を含む溶液でインキュベートする。第２の抗体は、ハイブリドーマ上清中に存在してもよい。対照として、固定化抗原を第２の非標識抗体でなく第１の標識抗体を含む溶液でインキュベートする。第１の抗体の抗原との結合を許容する条件下でインキュベートした後、過剰な非結合抗体を除去し、固定化抗原と会合した標識の量を測定する。固定化抗原と会合した標識の量が対照試料と比較して試験試料で実質的に減少すれば、それで、抗原との結合で第２の抗体が第１の抗体と競合することが示される。Ｈａｒｌｏｗ ａｎｄ Ｌａｎｅ（１９８８）Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ：Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ ｃｈ．１４（Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ，Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ，ＮＹ）を参照されたい。

【０２５４】

２．活性アッセイ

いくつかの態様において、生物活性を有する抗体の同定のためのアッセイを提供する。生物活性は、例えば、抗体と会合／複合体化した化合物を、ＢＢＢを横断して脳及び／又はＣＮＳの中に輸送することを含むことができる。生体内及び／又は生体外でのかかる生物活性を有する抗体も提供する。

【０２５５】

ある特定の実施形態において、かかる生物活性について本発明の抗体を試験する。

【０２５６】

Ｅ．免疫複合体

本発明は、１つ以上の細胞毒性薬、例えば化学療法剤又は薬剤、成長阻害剤（例えば、タンパク毒素、細菌、真菌、植物若しくは動物起源の酵素的活性毒素、又はそれらの断片）、又は放射性同位元素と複合体化した本明細書の抗体を含む免疫複合体も提供する。

【０２５７】

いくつかの実施形態において、薬剤、化学療法薬及び／又は造影剤を、ＢＢＢを横断してより効率的に輸送するために、本明細書の抗体を神経障害薬剤、化学療法薬及び／又は造影剤と結合させる。

【０２５８】

共有結合性複合体化は直接的又はリンカーを介することができる。ある特定の実施形態において、直接的複合体化は、蛋白質融合体（すなわち、抗体をコード化する２つの遺伝子の遺伝子的融合、例えば神経障害薬剤であり、単一蛋白質として発現する）の構築による。特定の実施形態において、直接的複合体化は、抗体の２つの部分の１つにある反応性基と、例えば神経薬上の相当基又は受容体間の共有結合形成による。特定の実施形態において、直接的複合体化は、適切な状況下で複合体化される他分子と共有結合を形成する反応性基（非限定的な例としてスルフヒドリル基又はカルボキシル基）を含ませるために、複合体化される２つの分子の１つの修飾（すなわち、遺伝子改変）による。１つの非限定例として、所望の反応性基（すなわち、システイン残基）をもつ分子（すなわち、アミノ酸）が抗体に導入されてもよく、ジスルフィド結合が例えば神経薬と形成されてもよい。蛋白質への核酸の共有結合形成の方法も当該技術分野では公知である（すなわち、光架橋

、例えばＺａｔｓｅｐｉｎ　ｅｔ　ａｌ．　Ｒｕｓｓ．Ｃｈｅｍ．Ｒｅｖ．７４：　７７－９５（２００５）を参照）。

【０２５９】

非共有結合性複合体化は、当業者によって容易に理解されるであろう疎水結合、イオン結合、静電的相互作用などを含む、あらゆる非共有結合性結合手法によることができる。

【０２６０】

複合体化は、種々のリンカーを使用して行うこともできる。例えば、抗体と神経薬は、Ｎ－スクシンイミジル－３－（２－ピリジルジチオ）プロピオナート（ＳＰＤＰ）、スクシンイミジル－４－（Ｎ－マレイミドメチル）シクロヘキサン－１－カルボキシラート（ＳＭＣＣ）、イミノチオラン（ＩＴ）、イミドエステルの二機能性誘導体（例えばジメチルアジピミダートＨＣｌ）、活性エステル（例えばスベリン酸ジスクシンイミジル）、アルデヒド（例えばグルタルアルデヒド）、ビス－アジド合成物（例えばビス－（ｐ－アジドベンゾイル）ヘキサンジアミン）、ビス－ジアゾニウム誘導体（例えばビス－（ｐ－ジアゾニウムベンゾイル）－エチレンジアミン）、ジイソシアナート（例えばトルエン２，６－ジイソシアナート）及びビス－活性フッ素化合物（例えば１，５－ジフルオロ－２，４－ジニトロベンゼン）などの様々な二機能性蛋白質カップリング剤を使用して複合体化させることができる。例えば、リシン免疫毒素はＶｉｔｅｔｔａ　ｅｔ　ａｌ．，Ｓｃｉｅｎｃｅ　２３８：１０９８（１９８７）に記載されているように調製することができる。炭素－１４標識１－イソチオシアナトベンジル－３－メチルジエチレントリアミンペンタ酢酸（ＭＸ－ＤＴＰＡ）は、抗体への放射性ヌクレオチドの複合のための、例となるキレート剤である。国際公開第９４／１１０２６号を参照されたい。ペプチド結合で結合した１～２０個のアミノ酸からなるペプチドリンカーも使用することができる。ある特定のかかる実施形態では、アミノ酸は２０個の天然アミノ酸から選択される。ある特定の他のかかる実施形態では、１つ以上のアミノ酸がグリシン、アラニン、プロリン、アスパラギン、グルタミン及びリシンから選択される。リンカーは、脳への輸送と同時に神経薬の放出を促進させる「開裂可能なリンカー」とすることができる。例えば、酸に不安定なリンカー、ペプチダーゼに敏感なリンカー、感光性リンカー、ジメチルリンカー又は二硫化物を含むリンカー（Ｃｈａｒｉ　ｅｔ　ａｌ．，Ｃａｎｃｅｒ　Ｒｅｓ．５２：１２７－１３１（１９９２）；米国特許第５，２０８，０２０号）を使用することができる。

【０２６１】

本明細書の本発明は、限定はされないがＢＭＰＳ、ＥＭＣＳ、ＧＭＢＳ、ＨＢＶＳ、ＬＣ－ＳＭＣＣ、ＭＢＳ、ＭＰＢＨ、ＳＢＡＰ、ＳＩＡ、ＳＩＡＢ、ＳＭＣＣ、ＳＭＰＢ、ＳＭＰＨ、スルホＥＭＣＳ、スルホＧＭＢＳ、スルホＫＭＵＳ、スルホＭＢＳ、スルホＳＩＡＢ、スルホＳＭＣＣ、及びスルホＳＭＰＢ、ならびに市販されている（例えば、Ｐｉｅｒｃｅ　Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ，Ｉｎｃ．，Ｒｏｃｋｆｏｒｄ，ＩＬ．，Ｕ．Ｓ．Ａから）ＳＶＳＢ（スクシンイミジル－（４－ビニルスルホン）ベンゾアート）を含む架橋剤で調製された複合体化体を明確に考慮するが、これらに限られない。

【０２６２】

免疫複合体は、限定はされないがメイタンシノイド（米国特許第５，２０８，０２０号、５，４１６，０６４号及び欧州特許第ＥＰ　０　４２５　２３５　Ｂ１号を参照）；モノメチルアウリスタチン薬剤部分ＤＥ及びＤＦ（ＭＭＡＥとＭＭＡＦ）などのアウリスタチン（米国特許第５，６３５，４８３号及び同５，７８０，５８８号と同７，４９８，２９８号を参照）；ドラスタチン；カリケアマイシン又はその誘導体（米国特許第５，７１２，３７４号、同５，７１４，５８６号、同５，７３９，１１６号、同５，７６７，２８５号、同５，７７０，７０１号、同５，７７０，７１０号、同５，７７３，００１号及び同５，８７７，２９６号；Ｈｉｎｍａｎ　ｅｔ　ａｌ．，Ｃａｎｃｅｒ　Ｒｅｓ．５３：３３３６－３３４２（１９９３）；及びＬｏｄｅ　ｅｔ　ａｌ．，Ｃａｎｃｅｒ　Ｒｅｓ．５８：２９２５－２９２８（１９９８）を参照）；ダウノマイシン又はドキソルビシンなどのアントラサイクリン（Ｋｒａｔｚ　ｅｔ　ａｌ．，Ｃｕｒｒｅｎｔ　Ｍｅｄ．Ｃｈｅｍ．１３：４７７－５２３（２００６）；Ｊｅｆｆｒｅｙ　ｅｔ　ａｌ．，Ｂｉｏｏｒ

ganic & Med. Chem. Letters 16：358－362（2006）；Torgov et al., Bioconj. Chem. 16：717－721（2005）；Nagy et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 97：829－834（2000）；Dubowchik et al., Bioorg. & Med. Chem. Letters 12：1529－1532（2002）；King et al., J. Med. Chem. 45：4336－4343（2002）；及び米国特許第6，630，579号を参照）；メトトレキセート；ビンデシン；タキサン（例えばドセタキセル、パクリタキセル、ラロタキセル、テセタキセルとオルタタキセル）；トリコテセン；及びCC1065を含む1つ以上の薬剤に抗体が複合体化した抗体－薬剤複合体（ADC）である。

【0263】

別の実施形態において、免疫複合体は、限定されないがジフテリアA鎖、ジフテリア毒素の非結合活性断片、外毒素A鎖（緑膿菌由来）、リシンA鎖、アブリンA鎖、モデシンA鎖、アルファ－サルシン、Aleurites fordiiタンパク質、ジアンチン蛋白質、Phytolaca americana蛋白質（PAPI，PAPII，及びPAP－S）、ニガウリ（Momordica charantia抑制剤、クルシン、クロチン、サボンソウSapaonaria officinalis抑制剤、ゲロニン、マイトゲリン（mitogellin）、レストリクトシン、フェノマイシン、エノマイシン及びトリコテセンを含め、これらの酵素的活性毒素又は断片に複合体化した本明細書で記載するような抗体を含む。

【0264】

別の実施形態において、免疫複合体は、放射性原子と複合体化して放射複合体を形成する本明細書に記載したような抗体を含む。種々の放射性同位体が、放射性複合体の作製のために利用可能である。例として、At^{211}、I^{131}、I^{125}、Y^{90}、Re^{186}、Re^{188}、Sm^{153}、Bi^{212}、P^{32}、Pb^{212}及びLuの放射性同位元素が挙げられる。放射複合体が検出に使用される場合、放射抱合体は、シンチグラフ検査用放射性原子、例えばtc99m又はI123）、あるいは核磁気共鳴（NMR）イメージング（別名磁気共鳴画像、mri）用スピン標識、例えばヨウ素123、ヨウ素131、インジウム111、フッ素19、炭素13、窒素15、酸素17、ガドリニウム、マンガン若しくは鉄を含むことができる。

【0265】

F．診断および検出のための方法および組成物

ある特定の実施形態において、本明細書に提供した任意の抗体は生体試料中の抗原の存在の検出に有用である。本明細書で使用される「検出すること」という用語は、定量または定性検出を包含する。特定の実施形態において、生体試料は細胞又は組織、例えば血液（すなわち、未成熟赤血球）、CSF、及びBBB含有組織を含む。

【0266】

いくつかの実施形態において、診断又は検出の方法に用いられる抗TfR／BACE1多重特異性抗体を提供する。更なる態様において、生体試料中のTfR及び／又はBACE1の存在の検出方法を提供する。ある特定の実施形態において、当該方法は、抗体への抗原の結合を許容する条件下、本明細書に記載した抗体と生体試料を接触させる、及び複合体が抗体と抗原の間に形成されたかどうかを検出することを備える。かかる方法は、インビトロ又はインビボの方法とすることができる。いくつかの実施形態において、例えばTfR及び／又はBACE1が患者選択のバイオマーカーの場合、本明細書に記載した抗体を使用して抗TfR／BACE1多重特異性抗体による治療に適格な対象を選択する。

【0267】

本発明の抗体を使用して診断することができる例示的障害には、TfRが網状赤血球で発現し、それで本発明の任意な抗体によって検出されることのため、未成熟赤血球を伴う障害が含まれる。かかる障害としては、網状赤血球レベルの減少から生じる貧血及び他の障害、あるいは、例えば網状赤血球の過剰増殖に起因する赤血球数の増加が血液及び随す

る生理的徴候をもたらす先天性赤血球増加症又は腫瘍性真性赤血球増加症が挙げられる。

【０２６８】

ある特定の実施形態において、標識抗ＴｆＲ／ＢＡＣＥ１多重特異性抗体を提供する。標識には、直接検出される標識または部分（蛍光標識、発色団標識、高電子密度標識、化学発光標識、および放射性標識等）、ならびに例えば、酵素反応または分子相互作用を通じて、間接的に検出される酵素またはリガンド等の部分が含まれるが、これらに限定されない。例示的標識としては、放射性同位元素^{32}Ｐ、^{14}Ｃ、^{125}Ｉ、^{3}Ｈ及び^{131}Ｉ、蛍光体（希土類元素キレート又はフルオレセイン及びその誘導体、ローダミン及びその誘導体、ダンシル、ウンベリフェロン、ルシフェラーゼ（例えばホタルルシフェラーゼ及び細菌性ルシフェラーゼ（米国特許第４，７３７，４５６号））、ルシフェリン、２，３－ジヒドロフタラジンジオン、西洋わさびペルオキシダーゼ（ＨＲＰ）、アルカリ性ホスファターゼ、β－ガラクトシダーゼ、グルコアミラーゼ、リゾチーム、糖質酸化酵素（例えばグルコースオキシダーゼ、ガラクトースオキシダーゼ、及びグルコース－６－燐酸デヒドロゲナーゼ）、複素環式オキシダーゼ（例えば過酸化水素を使用してＨＲＰ、ラクトペルオキシダーゼ等の染料前駆体を酸化する酵素でカップリングさせたウリカーゼ及びキサンチンオキシダーゼ）、あるいはマイクロペルオキシダーゼ、ビオチン／アビジン、スピン標識、バクテリオファージ標識、安定遊離ラジカルなどを挙げることができるが、これらに限定されない。

【０２６９】

いくつかの実施形態において、完全抗体はエフェクター機能を欠く。別の実施形態において、完全抗体は減少したエフェクター機能を有する。別の実施形態において、完全抗体は減少したエフェクター機能をもつように操作される。いくつかの態様において、抗体はＦａｂである。別の態様において、抗体はエフェクター機能を減少又は除去する１つ以上のＦｃ変異を有する。別の態様において、抗体は、例えば通常のヒトグリコシル化酵素を欠くシステムでの抗体産生に起因した改変されたグリコシル化を有する。別の態様において、Ｉｇ骨格は、天然に制限又は全くないエフェクター機能を有する骨格に修飾される。

【０２７０】

抗体のＴｆＲ及び／又はＢＡＣＥ１との結合の決定に関して様々な技術が利用できる。１つのかかるアッセイは、ヒトＴｆＲ及び／又はＢＡＣＥ１と結合する能力を確認するための酵素結合免疫測定法（ＥＬＩＳＡ）である。このアッセイに従って、抗原（例えば、組換え体ＴｆＲ　又はＢＡＣＥ１）で被覆したプレートを、抗体を含む試料とインキュベートし、抗体の対象抗原との結合を測定する。

【０２７１】

全身投与された抗体の取込み及び抗体の他の生物活性を評価するアッセイは、実施例に記載したように、又は対象の抗ＣＮＳ抗原抗体に関して知られているように行うことができる。

【０２７２】

いくつかの態様において、生物活性を有する抗ＴｆＲ／ＢＡＣＥ１多重特異性抗体を同定するためのアッセイを提供する。生物活性として、例えばＢＡＣＥ１アスパルチルプロテアーゼ活性の阻害が挙げられる。例えば、均一時間分解蛍光ＨＴＲＦ　アッセイ又は合成基質ペプチドを用いたミクロ流体キャピラリー電気泳動（ＭＣＥ）法のインビボ及びインビトロ、あるいはＡＰＰなどのＢＡＣＥ１基質を発現する細胞株でのインビボで前記生物活性を有する抗体を提供する。

【０２７３】

Ｆ．医薬製剤

本明細書に記載した抗体抗ＴｆＲ／ＢＡＣＥ１多重特異性抗体の医薬製剤は、１つ以上の任意な薬剤的に許容される担体、賦形剤又は安定剤（Ｒｅｍｉｎｇｔｏｎ’ｓ　Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ　Ｓｃｉｅｎｃｅｓ　１６ｔｈ　ｅｄｉｔｉｏｎ，Ｏｓｏｌ，Ａ．Ｅｄ．（１９８０））と所望の純度を有した当該抗体を、凍結乾燥された製剤又は水溶液の形態で混合して調製される。（１９８０））と混合することによって、凍結乾燥製剤

または水溶液の形態で、調製される。薬剤的に許容される担体、賦形剤又は安定剤は一般に、用いられる投与量及び濃度でレシピエントに無毒性であり、限定はされないが、バッファー（例えばホスファート、シトラート及び他の有機酸）；アスコルビン酸及びメチオニンを含む酸化防止剤；防腐剤（例えばオクタデシルジメチルベンジルアンモニウムクロリド；ヘキサメトニウムクロリド；塩化ベンザルコニウム、塩化ベンゼトニウム；フェノール、ブチルまたはベンジルアルコール；アルキル・パラベン（例えばメチルまたはプロピル・パラベン）；カテコール；レゾルシノール；シクロヘキサノール；３－ペンタノール；及びｍ－クレゾール）；低分子量（約１０未満の残基）ポリペプチド；タンパク質（例えば血清アルブミン、ゼラチン又は免疫グロブリン）；ポリビニルピロリドンなどの親水性のポリマー；アミノ酸（例えばグリシン、グルタミン、アスパラギン、ヒスチジン、アルギニン又はリシン）；ブドウ糖、マンノース又はデキストリンを含む単糖、二糖類及び他の炭水化物；ＥＤＴＡなどのキレート化剤；砂糖（例えば蔗糖、マンニトール、トレハロース又はソルビトール）；ナトリウムなどの塩成型対イオン；金属錯塩（例えばＺｎ－蛋白質錯体）；及び／又はポリエチレングリコール（ＰＥＧ）などの非イオン界面活性剤を挙げることができる。本明細書の例示的な薬剤的に許容される担体としては、更に、可溶性中性活性ヒアルロニダーゼ糖蛋白質（ｓＨＡＳＥＧＰ）（例えば、ヒト可溶性ｐＨ－２０ヒアルロニダーゼ糖蛋白質（例えばｒＨｕＰＨ２０（ ＨＹＬＥＮＥＸ（登録商標）、Ｂａｘｔｅｒ Ｉｎｔｅｒｎａｔｉｏｎａｌ，Ｉｎｃ．））などの侵入型薬分散剤が挙げられる。ｒＨｕＰＨ２０を含むある特定の例示的なｓＨＡＳＥＧＰ及び使用方法は、米国特許公開第２００５／０２６０１８６号及び同第２００６／０１０４９６８号に記載されている。いくつかの態様において、ｓＨＡＳＥＧＰは、コンドロイチン分解酵素などの１つ以上の追加的グリコサミノグリカナーゼと組み合わせる。

【０２７４】

例示的な凍結乾燥抗体製剤が米国特許第６，２６７，９５８号に記載されている。水性抗体製剤としては、米国特許第６，１７１，５８６号及び国際公開第２００６／０４４９０８号に記載されたものが挙げられ、後者の製剤はヒスチジン－酢酸バッファーを含む。

【０２７５】

本明細書における製剤はまた、治療されている特定の適応症に対する必要に応じて、１つを超える活性成分、好ましくは相互に悪影響を及ぼさない相補的活性を有する成分を含有してもよい。例えば、ニューロパチー障害、神経変性疾患、癌、眼性疾患障害、発作疾患、リソソーム蓄積症、アミロイドーシス、ウイルス性若しくは細菌性疾患、貧血、行動障害、又はＣＮＳ炎症を治療するための１つ以上の活性成分を更に提供することが望ましいこともある。例示的なかかる薬剤を以下で考察する。かかる活性成分は、その意図した目的に効果的な量で組み合わせて適切に存在する。

【０２７６】

活性成分は、例えば、コアセルベーション技術によって、または界面重合によって調製される、マイクロカプセル、例えば、それぞれ、コロイド状薬物送達系（例えば、リポソーム、アルブミンミクロスフェア、マイクロエマルション、ナノ粒子およびナノカプセル）中またはマクロエマルション中の、ヒドロキシメチルセルロースまたはゼラチン－マイクロカプセルおよびポリ－（メチルメタクリレート（ｍｅｔｈｙｌｍｅｔｈａｃｙｌａｔｅ））マイクロカプセル中に、封入されてもよい。そのうような技術は、例えばＲｅｍｉｎｇｔｏｎ’ｓ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ Ｓｃｉｅｎｃｅｓ １６ｔｈ ｅｄｉｔｉｏｎ，Ｏｓｏｌ，Ａ．Ｅｄ．（１９８０）で開示されている。１つ以上の活性成分を、本明細書に記載した抗ＴｆＲ／ＢＡＣＥ１多重特異性抗体に結合させるリポソームの中にカプセル化することができる。

【０２７７】

徐放性調製物が調製されてもよい。徐放性製剤の好適な例としては、抗体を含む固形疎水性ポリマーの半透過性基質であって、基質が造形物（例えば膜又はマイクロカプセル）の形の半透過性基質が挙げられる。持続放出性マトリックスの非限定例としては、ポリエステル、ヒドロゲル（例えば、ポリ（２－ヒドロキシエチル－メタクリレート）、または

ポリビニルアルコール、ポリ乳酸（米国特許第３，７７３，９１９号）、Ｌ－グルタミン酸とγエチル－Ｌ－グルタメートとのコポリマー、非分解性エチレン酢酸ビニル、例えばＬＵＰＲＯＮ　ＤＥＰＯＴ（商標）などの分解性の乳酸－グリコール酸コポリマー（乳酸－グリコール酸コポリマー及び酢酸ロイプロリドから構成される注射可能なマイクロスフェア）、ならびにポリ－Ｄ－（－）－３－ヒドロキシ酪酸が挙げられる。

【０２７８】

インビボ投与に使用される製剤は一般に無菌である。滅菌状態は、例えば、滅菌濾過膜を通じた濾過によって、容易に遂行され得る。

【０２７９】

Ｇ．治療方法と組成物

本明細書で提供したあらゆる抗体は、治療方法で使用することができる。いくつかの態様において、薬剤として使用するための抗ＴｆＲ／ＢＡＣＥ１多重特異性抗体を提供する。例えば、本発明は、抗体がＢＢＢを横断して輸送されるように抗ＴｆＲ／ＢＡＣＥ１多重特異性抗体をＢＢＢに曝露することを含め、赤血球個体群に減少又は排除の影響をもつ血液脳関門を横断して治療化合物を輸送する方法を提供する。別の例において、本発明は、抗体が赤血球個体群に減少又は排除の影響をもつＢＢＢを横断して輸送されるようにＢＢＢに本発明の抗ＴｆＲ／ＢＡＣＥ１多重特異性抗体を曝露することを含む血液脳関門を横断して神経障害薬剤を輸送する方法を提供する。いくつかの実施形態において、当該ＢＢＢは、例えば限定はされないが、アルツハイマー病（ＡＤ）、脳卒中、痴呆、筋ジストロフィー（ＭＤ）、多発性硬化症（ＭＳ）、筋萎縮性側索硬化症（ＡＬＳ）、嚢胞性線維症、Ａｎｇｅｌｍａｎ症候群、リドル症候群、パーキンソン病、ピック病、ページェット病、癌、外傷性脳損傷を含む神経障害がある哺乳類哺乳類（例えばヒト）に在る。

【０２８０】

いくつかの実施形態において、神経障害は神経病変、アミロイドーシス、癌（例えばＣＮＳ又は脳を含む）、眼性疾患又は障害、ウイルス性若しくは微生物感染症、炎症（例えばＣＮＳまたは脳）、虚血、神経変性疾患、発作、行動障害、リソソーム蓄積症などから選択される。本発明の抗体は、特に、１つ以上の会合活性成分（治療化合物と結合）を、ＢＢＢを横断させてＣＮＳ／脳（かかる障害が分子、細胞又はウイルス／微生物に基づくことがわかる）に輸送する能力により、かかる神経障害の治療に特に適している。

【０２８１】

神経障害は、神経病変障害は不適当又は制御不可の神経シグナリング又はその欠如で特徴付けられる神経系の疾患又は異常であり、慢性的疼痛（侵害性の痛みを含む）、体組織への損傷に起因する痛み、癌関連の痛み、神経障害性疼痛（神経、脊髄又は脳における異常に起因する痛み）、及び心因性疼痛（完全又は大部分は心因性障害に関係する）、頭痛、片頭痛、神経病変及びかかる神経病変障害（例えばめまいまたは吐き気）をしばしば併発する徴候と症候群が挙げられるが、これらに限定されない。

【０２８２】

神経病変障害の場合、麻薬／オピオイド鎮痛薬（すなわち、モルヒネ、フェンタニル、ヒドロコドン、メペリジン、メタドン、オキシモルホン、ペンタゾシン、プロポキシフェン、トラマドール、コデインとオキシコドン）を含むがこれに限らず鎮痛薬、非ステロイド性抗炎症薬（ＮＳＡＩＤ）（すなわち、イブプロフェン、ナプロキセン、ジクロフェナク、ジフルニサル、エトドラク、フェノプロフェン、フルルビプロフェン、インドメタシン、ケトロラク、メフェナム酸、メロキシカム、ナブメトン、オキサプロジン、ピロキシカム、スリンダクとトルメチン）、コルチコステロイド（すなわち、コーチゾン、プレドニゾン、プレドニゾロン、デキサメタゾン、メチルプレドニゾロンとトリアムシノロン）、抗片頭痛薬（すなわち、スマトリプタン、アルモトリプタン、フロバトリプタン、スマトリプタン、リザトリプタン、エレトリプタン、ゾルミトリプタン、ジヒドロエルゴタミン、エレトリプタンとエルゴタミン）、アセトアミノフェン、サリチラート（すなわち、アスピリン、サリチル酸コリン、サリチル酸マグネシウム、ジフルニサル及びサルサレート）、抗痙攣薬（すなわち、カルバマゼピン、クロナゼパム、ガバペンチン、ラモトリジ

ン、プレガバリン、チアガビン、及びトピラマート）、麻酔（すなわち、イソフルラン、トリクロルエチレン、ハロタン、セボフルラン、ベンゾカイン、ｃｈｌｏｒｏであるプロカイン、コカイン、シクロメチカイン、ジメトカイン、プロポキシカイン、プロカイン、ノボカイン、プロパラシュートで降下する人カイン、テトラカイン、アルチカイン、ブピバカイン、カルチカイン、シンコカイン、エチドカイン、左旋ブピバカイン、リドカイン、メピバカイン、ピペロカイン、プリロカイン、ロピバカイン、トリメカイン、サキシトキシン、及びテトロドトキシン）、及びｃｏｘ－２抑制剤（すなわち、セレコキシブ、ロフェコキシブ及びバルデコキシブ）に含むが、これに限定されるものではない鎮痛薬である神経薬を選択することができる。眩暈の関与がある神経障害の場合、メクリジン、ジフェンヒドラミン、プロメタジン及びジアゼパムに含むが、これに限定されない抗眩暈薬である神経薬を選択することができる。吐き気の関与があるる神経障害の場合、プロメタジン、クロルプロマジン、プロクロルペラジン、トリメトベンズアミド及びメトクロプラミドを含むが、これに限定されない抗吐き気薬である神経薬を選択することができる。

【０２８３】

アミロイドーシスは、一群の疾患及びＣＮＳ中の細胞外たんぱく質性沈着物と関連する障害であり、続発性アミロイドーシス、年齢関連性アミロイドーシス、アルツハイマー病（ＡＤ）、軽度認知障害（ＭＣＩ）、レヴィー小体認知症、ダウン症候群、アミロイドーシス（オランダ型）を伴う遺伝脳溢血、グアム－パーキンソン痴呆複合、脳アミロイド血管障害、ハンチントン病、進行性核上性麻痺、多発性硬化症、クロイツフェルトヤコブ病、パーキンソン病、伝播性海綿状脳症、ＩＶ　関連神経認知障害、筋萎縮性側索硬化症（ＡＬＳ）、封入体筋炎（ＩＢＭ）及びβ－アミロイド沈着関連の眼性疾患（すなわち、黄斑変性、結晶腔関連の視覚神経病変及び白内障）を含むが、これに限定されるものではない。

【０２８４】

アミロイドーシスの場合、抗体または他の結合分子（限定はされないが、小分子、ペプチド、アプタマーまたは他の蛋白質結合剤を含む）が、ベータセクレターゼ、タウ、プレセニリン、アミロイド前駆体蛋白質若しくはその部分、アミロイドベータペプチドまたはオリゴマー若しくはその原線維、細胞死受容体６（ＤＲ６）、終末糖化産物の受容体（ＲＡＧＥ）、パーキン及びハンチンチン；コリンエステラーゼ抑制因子（すなわち、ガランタミン、ドネペジル、リバスチグミン及びタクリン）；ＮＭＤＡ受容体拮抗剤（すなわち、メマンチン）、モノアミン枯渇薬（すなわち、テトラベナンジン）；エルゴセルロイド片メシレート；抗コリン作用性抗パーキンソン症薬（すなわち、プロシクリジン、ジフェンヒドラミン、トリヘキシフェニジル、ベンズトロピン、ビペリデン及びトリヘキシフェニジル）；ドーパミン作動性抗パーキンソン症薬（すなわち、エンタカポン、セレジリン、プラミペキソール、ブロモクリプチン、ロチゴチン、セレジリン、ロピニロール、ラサギリン、アポモルヒネ、カルビドパ、レボドパ、ペルゴリド、トルカポンとアマンタジン）；テトラベナンジン；消炎剤（限定されないが、非ステロイド性抗炎症薬（すなわち、インドメタシン及び上の他の合成物）を含む）；ホルモン（すなわち、エストロゲン、黄体ホルモン及びロイプロリド）；ビタミン（すなわち、葉酸塩及びニコチンアミド）；ジメボリン；ホモタウリン（すなわち、－３－アミノプロパンスルホン酸；３ＡＰＳ）；セロトニン・レセプター活動変調器（すなわち、キサリプロデン）；インターフェロン及び糖質コルチコイドを含むが、これに限定されない選択された標的に特異的に結合する神経薬を選択することができる。

【０２８５】

ＣＮＳの癌は、１つ以上のＣＮＳ細胞（すなわち、神経細胞）の異常増殖によって特徴付けられ、膠腫、未分化星状細胞腫、髄膜腫、星細胞腫、聴神経腫、軟骨腫、乏突起膠腫、髄芽腫、神経節膠腫、シュワン細胞腫、神経繊維腫、神経芽腫及び硬膜外、髄内又は硬膜内腫瘍を含むが、これに限定されるものではない。

【０２８６】

癌の場合、化学療法薬の神経薬を選択することができる。化学療法薬の例としては、ア

ルキル化剤（例えばチオテパ及びＣＹＴＯＸＡＮ（登録商標）及びシクロホスファミド）；アルキルスルホナート（例えばブスルファン、インプロスルファン及びピポスルファン）；アジリジン（例えばベンゾドーパ、カルボコン、メツレドーパ及びウレドーパ）；アルトレタミン、トリエチレンメラミン、トリエチレンホスホルアミド、トリエチレンチオホスホラミド及びトリメチロールメラミン（ｔｒｉｍｅｔｈｙｌｏｌｏｍｅｌａｍｉｎｅ）を含むエチレンイミン及びメチロールメラミン（ｍｅｔｈｙｌａｍｅｌａｍｉｎｅｓ）；アセトゲニン（特にブラタシン及びブラタシノン）；デルタ－９－テトラヒドロカンナビノール（ドロナビノール（ＭＡＲＩＮＯＬ）（登録商標））；ベーターラパコン；ラパコール；コルヒチン；ベツリン酸；カンプトテシン（合成類似物トポテカン（ＨＹＣＡＭＴＩＮ（登録商標））、ＣＰＴ－１１（イリノテカン（ＣＡＭＰＴＯＳＡＲ）（登録商標））、アセチルカンプトテシン、スコポレチン、及び９－アミノカンプトテシンを含む）；ブリオスタチン；カリスタチン；ＣＣ－１０６５（アドゼレシン、カルゼレシン及びビゼレシン合成類似物を含む）；ポドフィロトキシン；ポドフィリン酸；テニポシド；クリプトフィシン（特にクリプトフィシン　１及びクリプトフィシン　８）；ドラスタチン；デュオカルマイシン（合成類似物、ＫＷ－２１８９及びＣＢ１－ＴＭ１を含む）；エリュテロビン；パンクラチスタチン；サルコジクチイン；スポンギスタチン；ナイトロジェンマスタード（例えばクロラムブシル、クロルナファジン、胆汁燐酸アミド、エストラムスチン、イホスファミド、メクロルエタミン、メクロルエタミンオキシド塩酸、メルファラン、ノブエンビキン、フェノールエステルイン、プレドニムスチン、トロホスファミド、ウラシルマスタード）；ニトロソウレア（例えばカルムスチン、クロロゾトシン、ホテムスチン、ロムスチン、ニムスチン及びラニムスチン）；エンジイン抗生物質などの抗生物質（例えば、カリケアマイシン、具体的にはカリケアマイシンｇａｍｍａ１Ｉ、及びカリケアマイシンｏｍｅｇａＩ１（例えば、Ａｇｎｅｗ，Ｃｈｅｍ　Ｉｎｔｌ．Ｅｄ．Ｅｎｇｌ．，３３：　１８３－１８６（１９９４）を参照）、ジネミシン　Ａを含むジネミシン；エスペラマイシン；ならびにネオカルチノスタチン発色団及び関連色素タンパク質エンジイン抗生物質発色団）、、アクラシノマイシン、アクチノマイシン、アントラマイシン、アザセリン、ブレオマイシン、カクチノマイシン、カラビシン、カルミノマイシン、カルジノフィリン、クロモマイシン（ｃｈｒｏｍｏｍｙｃｉｎｉｓ）、ダクチノマイシン、ダウノルビシン、デトルビシン、６－ジアゾ－５－オキソ－Ｌ－ノルロイシン、ＡＤＲＩＡＭＹＣＩＮ（登録商標）ドキソルビシン（モルホリノ－ドキソルビシン、シアノモルフォリノ－ドキソルビシン、２－ピロリノ－ドキソルビシン及びデオキシドキソルビシンを含む）、エピルビシン、エソルビシン、イダルビシン、マルセロマイシン、マイトマイシンＣなどのマイトマイシン、ミコフェノール酸、ノガラマイシン、オリボマイシン、ペプロマイシン、ポトフィロマイシン、ピューロマイシン、クエラマイシン、ロドルビシン（ｒｏｄｏｒｕｂｉｃｉｎ）、ストレプトニグリン、ストレプトゾシン、ツベルシジン、ウベニメクス、ジノスタチン、ゾルビシン（ｚｏｒｕｂｉｃｉｎ）；抗代謝剤（例えばメトトレキセート及び５－フルオロウラシル（５－ＦＵ））；葉酸類似物（例えばデノプテリン、メトトレキセート、プテロプテリン、トリメトレキセート）；プリン類似物（例えばフルダラビン、６－メルカプトプリン、チアミプリン、チオグアニン）；ピリミジン類似物（例えばアンシタビン、アザシチジン、６－アザウリディン、カルモフール、シタラビン、ジデオキシウリジン、ドキシフルリジン、エノシタビン、フロクシウリジン）；アンドロゲン（例えばカルステロン、プロピオン酸ドロモスタノロン、エピチオスタノール、メピチオスタン、テストラクトン）；抗アドレナル（例えばアミノグルテチミド、ミトーテン、トリロスタン）；フォリン酸（ｆｒｏｌｉｎｉｃ　ａｃｉｄ）などの葉酸補充液；アセグラトン；アルドホスファミド配糖体；アミノレブリン酸；エニルウラシル；アムサクリン；ベストラブシル；ビサントレン；エダトレキサート；デフォファミン；デメコルチン；ジアジクォン；エフロルニチン；エリプチニウム酢酸；エポチロン；エトグルシド；硝酸ガリウム；ヒドロキシ尿素；レンチナン；ロニダミン；メイタンシノイド（例えばマイタンシン及びアンサマイトシン）；ミトグアゾン；ミトキサントロン；モピダンモール；ニトラエリン；ペントスタチン；フェナメット；ピラルビシン；ロソキサントロン；

２－エチルヒドラジド；プロカルバジン；ＰＳＫ（登録商標）多糖複合体（ＪＨＳ天然物、Ｅｕｇｅｎｅ、ＯＲ）；ラゾキサン；リゾキシン；シゾフィラン；スピロゲルマニウム；テヌアゾン酸；トリアジクオン；２，２’，２”－トリクロロトリエチルアミン；トリコテセン（特にＴ－２毒素、ベラキュリンＡ、ロリジンＡ及びアングイジン）；ウレタン；ビンデシン（ＥＬＤＩＳＩＮＥ（登録商標）、ＦＩＬＤＥＳＩＮ（登録商標））；ダカルバジン；マンノムスチン；ミトブロニトール；ミトラクトール；ピポブロマン；ガシトシン；アラビノシド（「Ａｒａ－Ｃ」）；チオテパ；タキソイド（例えば、ＴＡＸＯＬ（登録商標）パクリタキセル（Ｂｒｉｓｔｏｌ－Ｍｙｅｒｓ Ｓｑｕｉｂｂ Ｏｎｃｏｌｏｇｙ，Ｐｒｉｎｃｅｔｏｎ，Ｎ．Ｊ．）、ＡＢＲＡＸＡＮＥＴＭクレモホアフリー、パクリタキセルのアルブミン改変ナノ粒子製剤（Ａｍｅｒｉｃａｎ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ Ｐａｒｔｎｅｒｓ，Ｓｃｈａｕｍｂｅｒｇ，Ｉｌｌｉｎｏｉｓ）、及びＴＡＸＯＴＥＲＥ（登録商標）ドセタキセル（Ｒｈｏｎｅ－Ｐｏｕｌｅｎｃ Ｒｏｒｅｒ，Ａｎｔｏｎｙ，Ｆｒａｎｃｅ）；クロラムブシル；ゲムシタビン（ＧＥＭＺＡＲ（登録商標））；６－チオグアニン；メルカプトプリン；メトトレキセート；プラチナ類似体（例えばシスプラチン及びカルボプラチン）；ビンブラスチン（ＶＥＬＢＡＮ（登録商標））；プラチナ；エトポシド（ＶＰ－１６）；イホスファミド；ミトキサントロン；ビンクリスチン（ＯＮＣＯＶＩＮ（登録商標））；オキサリプラチン；ロイコボリン（ｌｅｕｃｏｖｏｖｉｎ）；ビノレルビン（ＮＡＶＥＬＢＩＮＥ（登録商標））；ノバントロン；エダトレキサート；ダウノマイシン；アミノプテリン；イバンドロネート；トポイソメラーゼ抑制剤ＲＦＳ ２０００；ジフルオロメチルオルニチン（ＤＭＦＯ）；レチノイン酸などのレチノイド；カペシタビン（ＸＥＬＯＤＡ（登録商標））；薬剤的に許容される塩、酸または上の任意の誘導体；ならびにＣＨＯＰ（シクロホスファミド、ドキソルビシン、ビンクリスチン及びプレドニゾロンのための略語）、及びＦＯＬＦＯＸ（５－ＦＵ及びロイコボリン（ｌｅｕｃｏｖｏｖｉｎ）を併用したオキサリプラチン（ＥＬＯＸＡＴＩＮＴＭ）による治療計画の略語）のような上の２つまたはそれ以上の組み合わせを挙げることができる。

【０２８７】

また、化学療法薬のこの定義に、癌の増殖を促進するホルモンの影響を制御、低減、阻止又は抑制するように作用し、しばしば全身療法又は全身治療の形態である抗ホルモン剤も含まれる。それら自体がホルモンであってもよい。例には、例えばタモキシフェン（ＮＯＬＶＡＤＥＸ（登録商標）タモキシフェンを含む）、ＥＶＩＳＴＡ（登録商標）ラロキシフェン、ドロロキシフェン、４－ヒドロキシタモキシフェン、トリオキシフェン、ケオキシフェン、ＬＹ１１７０１８、オナプリストン、及びＦＡＲＥＳＴＯＮ（登録商標）トレミフェンを含む抗エストロゲン及び選択的エストロゲン受容体修飾薬（ＳＥＲＭ）；抗プロゲステロン；エストロゲン受容体下方調節薬（ＥＲＤ）；卵巣を抑制するかまたは閉鎖させるように機能する薬剤、例えばＬＵＰＲＯＮ（登録商標）及びＥＬＩＧＡＲＤ（登録商標）ロイプロリド酢酸塩、ゴセレリン酢酸塩、ブセレリン酢酸塩、ならびにトリプテレリンなどの黄体形成ホルモン放出ホルモン（ＬＨＲＨ）アゴニスト；フルタミド、ニルタミド、及びビカルタミドなどの他の抗アンドロゲン；更に例えば、４（５）－イミダゾール、アミノグルテチミド、ＭＥＧＡＳＥ（登録商標）メゲストロール酢酸塩、ＡＲＯＭＡＳＩＮ（登録商標）エキセメスタン、ホルメスタイン、ファドロゾール、ＲＩＶＩＳＯＲ（登録商標）ボロゾール、ＦＥＭＡＲＡ（登録商標）レトロゾール、及びＡＲＩＭＩＤＥＸ（登録商標）アナストロゾールなどの、副腎内のエストロゲン産生を調節する酵素アロマターゼを阻害するアロマターゼ阻害剤が含まれる。加えて、化学療法剤のかかる定義には、クロドロネート（例えば、ＢＯＮＥＦＯＳ（登録商標）またはＯＳＴＡＣ（登録商標））、ＤＩＤＲＯＣＡＬ（登録商標）エチドロネート、ＮＥ－５８０９５、ＺＯＭＥＴＡ（登録商標）ゾレドロン酸／ゾレドロネート、ＦＯＳＡＭＡＸ（登録商標）アレンドロネート、ＡＲＥＤＩＡ（登録商標）パミドロネート、ＳＫＥＬＩＤ（登録商標）チルドロネート、またはＡＣＴＯＮＥＬ（登録商標）リセドロネートなどのビスホスホネート；ならびにトロキサシタビン（１，３－ジオキソランヌクレオシドシトシンアナログ）；アン

チセンスオリゴヌクレオチド、特に、例えばＰＫＣ－アルファ、Ｒａｆ、Ｈ－Ｒａｓ、及び表皮成長因子受容体（ＥＧＦＲ）などの異所（ａｂｈｅｒａｎｔ）細胞増殖に関係があるとされるシグナル伝達系路における遺伝子の発現を阻害するもの；ＴＨＥＲＡＴＯＰＥ（登録商標）ワクチン及び遺伝子治療ワクチン、例えばＡＬＬＯＶＥＣＴＩＮ（登録商標）ワクチン、ＬＥＵＶＥＣＴＩＮ（登録商標）ワクチン、及びＶＡＸＩＤ（登録商標）ワクチンなどのワクチン；ＬＵＲＴＯＴＥＣＡＮ（登録商標）トポイソメラーゼ１阻害剤；ＡＢＡＲＥＬＩＸ（登録商標）ｒｍＲＨ；ジトシル酸ラパチニブ（別名ＧＷ５７２０１６、ＥｒｂＢ－２及びＥＧＦＲ二重チロシンキナーゼ小分子阻害剤）；更に薬学上許容される塩、酸、または上のうちのいずれかの誘導体が含まれる。

【０２８８】

ガン治療または予防用の神経薬として選択することができる別の合成物群は、抗癌免疫グロブリン（トラスツズマブ、ペルツズマブ、ベバシズマブ、アレムツズマブ、セツキシマブ、ゲムツズマブ・オゾガミシン、イブリツモマブ・チウキセタン、パニツムマブ及びリツキシマブを含むがこれらに限らない）である。いくつかの例において、毒性標識を連結した抗体または複合体は、限定はされないが、^{131}Ｉ放射能標識を有したトシツモマブまたはトラスツズマブ　エムタンシンを含め、所望の細胞（例えば、癌細胞）を標的または死滅させるために使用することができる。

【０２８９】

眼性疾患または障害は、本明細書の目的に関してはＢＢＢによって分離されるＣＮＳ器官とみなされる眼の病気または障害である。眼性疾患または障害としては、強膜、角膜、虹彩及び毛様体（すなわち、強膜炎、角膜炎、角膜潰瘍、角膜摩滅、雪盲、アーク溶接眼疾患、Ｔｈｙｇｅｓｏｎ点状表層角膜炎、角膜新血管新生、フックス角膜ジストロフィー、円錐角膜、乾性角結膜炎、虹彩炎及びブドウ膜炎）、レンズの障害（すなわち、白内障）、脈絡膜及び網膜の障害（すなわち、網膜剥離、網膜分離症、高血圧性網膜症、糖尿病性網膜症、網膜症、未熟児網膜症、年齢関連性黄斑変性、黄斑変性（ウエットまたはドライ）、網膜上膜、網膜色素変性症及び斑状浮腫）障害緑内障、飛蚊症、視神経及び視覚路の障害（すなわち、レーベル遺伝性視神経症及び視神経乳頭ドルーゼン）、眼筋／両眼運動調節／屈折の障害（すなわち、斜視、眼不全麻痺、進行性外眼筋麻痺、内斜視、外斜視、遠視、近眼）、乱視、不同視、老視、及び眼筋麻痺）、視覚障害及び盲目（すなわち、弱視、レーバー先天黒内障、暗点、色盲、色盲、夜盲症、盲目、糸状虫症及び微小眼炎／欠損症）、赤目、アーガイルロバートソン瞳孔、角膜真菌症、眼球乾燥症及び無虹彩を挙げることができるが、これらに限定されない。

【０２９０】

眼性疾患または障害の場合、抗血管新生眼科用剤（すなわち、ベバシズマブ、ラニビズマブ及びペガプタニブ）、眼科用緑内障薬（すなわち、カルバコール、エピネフリン、臭化デメカリウム、アプラクロニジン、ブリモニジン、ブリンゾールアミド、レボブノロール、チモロール、ベタキソロール、ドルゾラミド、ビマトプロスト、カルテオロール、メチプラノロール、ジピベフリン、トラボプロスト、そして、ラタノプロスト）、炭酸脱水酵素阻害薬（すなわち、メタゾラミド及びアセタゾールアミド）、眼科用抗ヒスタミン剤（すなわち、ナファゾリン、フェニレフリン及びテトラヒドロゾリン）、眼潤滑油、眼科用ステロイド（すなわち、フルオロメトロン、プレドニゾロン、ロテプレドノール、デキサメタゾン、ジフルプレドナート、リメキソロン、フルオシノロン、メドリゾン及びトリアムシノロン）、眼科用麻酔薬（すなわち、リドカイン、プロパラカイン及びテトラカイン）、眼科用抗感染薬（すなわち、レボフロキサシン、ガチフロキサシン、シプロフロキサシン、モキシフロキサシン、クロラムフェニコール、バシトラシン／ポリミキシンｂ、スルファセタミド、トブラマイシン、アジスロマイシン、ベシフロキサシン、ノルフロキサシン、スルフィソキサゾール、ゲンタミシン、イドクスウリジン、エリスロマイシン、ナタマイシン、グラミシジン、ネオマイシン、オフロキサシン、トリフルリジン、ガンシクロビル、ビダラビン）、眼科用抗炎症薬（すなわち、ネパフェナク、ケトロラク、フルルビプロフェン、スプロフェン、サイクロスポリン、トリアムシノロン、ジクロフェナク

とブロムフェナク）及び眼科用抗ヒスタミン剤または鬱血除去薬（すなわち、ケトチフェン、オロパタジン、エピナスチン、ナファゾリン、クロモグリク酸ナトリウム、テトラヒドロゾリン、ペミロラスト、ベポタスチン、ナファゾリン、フェニレフリン、ネドクロミル、ロドキサミド、フェニレフリン、エメダスチンとアゼラスチン）である神経薬を選択することができる。

【０２９１】

ＣＮＳのウイルスまたは微生物感染症としては、ウイルスによる感染症（すなわち、インフルエンザ、ＨＩＶ、ポリオウイルス、風疹）、細菌（すなわち、ナイセリア属種、連鎖球菌属種、、シュードモナス属種、プロテウス属種、大腸菌、黄色ブドウ球菌、肺炎球菌種、髄膜炎菌種、ヘモフィルス属種及び結核菌）及び他の微生物、例えば真菌によって感染症を含むが、これに限定されるものではない。そして、真菌（すなわち、酵母、クリプトコックス・ネオフォルマンス）、髄膜炎、脳炎、脊髄炎、脈管炎及び膿瘍（急性または慢性）を含むがこれに限らないＣＮＳ病態生理をもたらす寄生虫（すなわち、トキソプラズマ）またはアメーバを挙げることができるが、これらに限定されない。

【０２９２】

ウイルスまたは微生物疾患の場合、抗ウイルス性化合物（アダマンタン抗ウイルス薬（すなわち、リマンタジン及びアマンタジン）、抗ウイルス性インターフェロン（すなわち、ペグインターフェロンα－２ｂ）、炎症性細胞遊走因子受容体拮抗剤（すなわち、マラビロク）、インテグラーゼ阻害剤（すなわち、ラルテグラビル）、ノイラミニダーゼ抑制剤（すなわち、オセルタミビルとザナミビル）、非核酸系逆転写酵素阻害剤（すなわち、エファビレンツ、エトラビリン、デラビルジン及びネビラピン）ヌクレオシド逆転写酵素抑制剤（テノホビル、アバカビル、ラミブジン、ジドブジン、スタブジン、エンテカビル、エムトリシタビン、アデフォビル、ザルシタビン、テルビブジン、及びジダノシン）、プロテアーゼ抑制因子（すなわち、ダルナビル、アタザナビル、ホスアンプレナビル、チプラナビル、リトナビル、ネルフィナビル、アンプレナビル、インジナビル及びサキナビル）、プリンヌクレオシド（すなわち、バラシクロビル、ファムシクロビル、アシクロビル、リバビリン、ガンシクロビル、バルガンシクロビル及びシドホビル）、及び混合型抗ウイルス薬（すなわち、エンフュービルタイド、フォスカーネット、パリビズマブ及びホミビルセン）を含むがこれらに限られない）、抗生物質（アミノペニシリン（すなわち、アモキシリン、アンピシリン、オキサシリン、ナフシリン、クロキサシリン、ジクロキサシリン、フルクロキサシリン（ｆｌｕｃｏｘａｃｉｌｌｉｎ）、テモシリン、アズロシリン、カルベニシリン、チカルシリン）、メズロシリン、ピペラシリン、そして、バカンピシリン）、セファロスポリン（すなわち、セファゾリン、セファレキシン、セファロチン、セファマンドール、セフトリアキソン、セフォタキシム、セフポドキシム、セフタジジム、セファドロキシル、セフラジン、ロラカルベフ、セフォテタン、セフロキシム、セフプロジル、セファクロルとセフォキシチン）、カルバペネム／ペネム（すなわち、イミペネム、メロペネム、エルタペネム、ファロペネム及びドリペネム）、モノバクタム（すなわち、アズトレオナム、チゲモナム、ノルカルジシンＡ及びタブトキシニン－β－ラクタム、別のβ－ラクタム系抗生物質と連結したβラクタマーゼ抑制剤（すなわち、クラブラン酸、タゾバクタム及びスルバクタム）、アミノグリコシド（すなわち、アミカシン、ゲンタミシン、カナマイシン、ネオマイシン、ネチルマイシン、ストレプトマイシン、トブラマイシン、及びパロモマイシン）、アンサマイシン（すなわち、ゲルダナマイシン及びハービマイシン）、カルバセフェム（すなわち、ロラカルベフ）、グリコペプチド（すなわち、テイコプラニンとバンコマイシン）、マクロライド（すなわち、アジスロマイシン、クラリスロマイシン、ジリスロマイシン、エリスロマイシン、ロキシスロマイシン、トロレアンドマイシン、テリスロマイシン及びスペクチノマイシン）、モノバクタム（すなわち、アズトレオナム）、キノロン（すなわち、シプロフロキサシン、エノキサシン、ガチフロキサシン、レボフロキサシン、ロメフロキサシン、モキシフロキサシン、ノルフロキサシン、オフロキサシン、トロバフロキサシン、グレパフロキサシン、スパルフロキサシンとテマフロキサシン）、スルホンアミド（すなわち、マフェニド、スルホンアミドク

リソイジン、スルファセタミド、スルファダイアジン、スルファメチゾール、スルファニルアミド、スルファサラジン、スルフィソキサゾール）、トリメトプリム、トリメトプリム及びスルファメトキサゾール）、テトラサイクリン（すなわち、テトラサイクリン、デメクロサイクリン、ドキシサイクリン、ミノサイクリン及びオキシテトラサイクリン）、抗腫瘍性または細胞毒性の抗生物質（すなわち、ドキソルビシン、ミトキサントロン、ブレオマイシン、ダウノルビシン、ダクチノマイシン、エピルビシン、イダルビシン、ひだマイシン、マイトマイシン、ペントスタチン及びバルルビシン）と種々の抗菌性合成物（すなわち、バシトラシン、コリスチンとポリミキシンＢ）を含むがこれらに限られない）、抗真菌薬（すなわち、メトロニダゾール、ニタゾキサニド、チニダゾール、クロロキン、ヨードキノールとパロモマイシン）、及び駆虫剤（キニーネ、クロロキン、アモジアキン、ピリメタミン、スルファドキシン、プログアニル、メフロキン、アトバクオン、プリマキン、アーテミシニン、ハロファントリン、ドキシサイクリン、クリンダマイシン、メベンダゾール、パモ酸ピランテル、チアベンダゾール、ジエチルカルバマジン、アイバメクチン、リファンピン、アンホテリシンＢ、メラルソプロール、エフロルニチン及びアルベンダゾールを含むが、これらに限定されない神経薬を選択することができる。

【０２９３】

ＣＮＳの炎症としては、物理的傷害（すなわち、事故、手術、脳損傷、脊髄損傷、振盪に起因）の場合、１つ以上の他の疾患に起因、または関連する傷害の場合、またはＣＮＳの障害（すなわち、膿瘍、癌、ウイルスまたは微生物感染症）の場合があるＣＮＳの傷害に起因する炎症が挙げられるが、これらに限定されない。

【０２９４】

ＣＮＳ炎症の場合、炎症自体（すなわち、非ステロイド性抗炎症薬（例えばイブプロフェンまたはナプロキセン））を処理する神経薬、または炎症の根本原因を治療する神経薬（すなわち、抗ウイルス薬または抗がん剤）の神経薬を選択することができる。

【０２９５】

本明細書で使用されるとき、ＣＮＳの虚血は、脳における異常な血流または血管挙動と関連する障害、あるいは焦点脳虚血、全脳虚血、脳卒中（すなわち、クモ膜下出血及び脳内出血）、及び動脈瘤を含むが、これに限定されない原因の障害を意味する。

【０２９６】

虚血の場合、血栓溶解薬（すなわち、ウロキナーゼ、アルテプラーゼ、レテプラーゼとテネクテプラーゼ）、血小板凝集抑制剤（すなわち、アスピリン、シロスタゾール、クロピドグレル、プラスグレルとジピリダモール）、スタチン（すなわち、ロバスタチン、プラバスタチン、フラバスタチン、ロスバスタチン、アトルバスタチン、シンバスタチン、セリバスタチンとピタバスタチン）及び血流または脈管柔軟性を改善する化合物（例えば、血圧薬剤を含む）を含むがこれらに限定されない神経薬を選択することができる。

【０２９７】

神経変性疾患は、ＣＮＳの機能の神経細胞消失または死滅と関連する一群の疾患及び傷害であり、副腎白質萎縮症、アレキサンダー病、アルパーズ症候群、筋萎縮性側索硬化症、毛細管拡張性運動失調、バッテン病、コケイン症候群、大脳皮質基底核変性症、アミロイドーシスに起因または関連する縮退、て、または、それに関連した引き起こされる縮退、フリードライヒ運動失調症、前頭側頭葉変性症、ケネディ病、多系統萎縮症、多発性硬化症、原発性側索硬化症、進行性核上性麻痺、脊髄筋萎縮、横断脊髄炎、レフサム病及び脊髄小脳失調症を挙げることができるが、これらに限定されない。

【０２９８】

神経変性疾患の場合、成長ホルモンまたは神経栄養因子である神経薬を選択することができ、例としては、脳由来神経栄養因子（ＢＤＮＦ）、神経発育因子（ＮＧＦ）、ニューロトロフィン－４／５、線維芽細胞成長因子（ＦＧＦ）－２、及び他のＦＧＦ、ニューロトロフィン（ＮＴ）－３、エリスロポエチン（ＥＰＯ）、肝細胞成長因子（ＨＧＦ）、上皮細胞成長因子（ＥＧＦ）、トランスフォーミング成長因子（ＴＧＦ）－アルファ、ＴＧＦ－β、血管内皮成長因子（ＶＥＧＦ）、インターロイキン－１受容体拮抗剤（ＩＬ－１

ｒａ）、毛様神経栄養因子（ＣＮＴＦ）、神経膠由来神経栄養性要因（ＧＤＮＦ）、ニューレルツリン、血小板由来成長因子（ＰＤＧＦ）、ヘレグリン、ニューレグリン、アルテミン、ペルセフィン、インターロイキン、神経膠細胞系、神経栄養性要因（ＧＦＲ）、顆粒球コロニー刺激因子（ＣＳＦ）、顆粒球－マクロファージ－ＣＳＦ、ネトリン、カルジオトロフィン－１、ハリマウス、白血病抑制因子（ＬＩＦ）、ミッドカイン、多変化ヒン、骨形成たん白質（ＢＭＰ）、ネトリン、サポシン、セマフォリン及び幹細胞因子（ＳＣＦ）を挙げることができるが、これらに限定されない。

【０２９９】

ＣＮＳの発作病と障害は、ＣＮＳにおける不適当および／または異常な電気伝導が関係しており、癲癇（すなわち、欠神発作、弛緩発作、良性ローランドてんかん、小児欠神発作、間代発作、複雑部分発作、前頭葉癲癇、熱痙攣、点頭痙攣、若年性ミオクロニーてんかん、若年性欠神てんかん、レノックス・ガストー症候群、ランドークレフナー症候群、Ｄｒａｖｅｔ（ドラベ）症候、大田原症候群、Ｗｅｓｔ症候群、ミオクローヌス発作、ミトコンドリア障害、進行性ミオクローヌスてんかん、心因発作、反射性てんかん、ラスムッセン（Ｒａｓｍｕｓｓｅｎ）症候群、単純部分発作、続発全汎てんかん、側頭葉てんかん、強直間代発作、強直性けいれん、精神運動発作、大脳辺縁てんかん、部分発作、全般発作、痙攣重積状態、腹部てんかん、無動発作、自律性発作、両側汎発性ミオクローヌス、月経てんかん、転倒発作、感情的発作、焦点発作、笑い発作、ジャクソン発作、ラフォラ（Ｌａｆｏｒａ）病、運動発作、多病巣性発作、夜間発作、光過敏性発作、疑似発作、感覚発作、微細発作、樹木発作、離脱けいれん及び視覚反射発作を挙げることができるが、これらに限定されない。

【０３００】

発作疾患の場合、バルビツレート抗痙攣薬（すなわち、プリミドン、メタルビタール、メフォバルビタール、アロバルビタール、アモバルビタール、アプロバルビタール、アルフェナール、バルビタール、ブラロバルビタール及びフェノバルビタール）、ベンゾジアゼピン抗痙攣薬（すなわち、ジアゼパム、クロナゼパム及びロラゼパム）、カルバミン酸塩抗痙攣薬（すなわちフェルバマート）、炭酸脱水酵素阻害薬抗痙攣薬（すなわち、アセタゾールアミド、トピラマート及びゾニサミド）、ジベンザゼピン抗痙攣薬（すなわち、ルフィナミド、カルバマゼピン及びオクスカルバゼピン）、脂肪酸派生物抗痙攣薬（すなわち、ジバルプロエックス及びバルプロ酸）、ガンマ－アミノ酪酸の類似体（すなわち、プレガバリン、ガバペンチン及びビガバトリン）、ガンマ－アミノ酪酸再摂取抑制剤（すなわち、チアガビン）、ガンマ－アミノ酪酸トランスアミナーゼ抑制剤（すなわち、ビガバトリン）、ヒダントイン抗痙攣薬（すなわちフェニトイン、エトトイン、ホスフェニトイン及びメフェニトイン）、種々の抗痙攣薬（すなわち、ラコサミド及び硫酸マグネシウム）、女性ホルモン（すなわち、黄体ホルモン）、オキサゾリジンジオン抗痙攣薬（すなわち、パラメタジオン及びトリメタジオン）、ピロリジン抗痙攣薬（すなわち、レベチラセタム）、スクシンイミド抗痙攣薬（すなわち、エトスクシミド及びメトスクシミド）、トリアジン抗痙攣薬（すなわち、ラモトリジン）及び尿素抗痙攣薬（すなわち、フェナセミド及びフェネツリッド）を含むが、これらに限定されない抗痙攣薬または抗てんかん薬である神経薬を選択することができる。

【０３０１】

行動障害は、罹患した被検者側の異常な行動に特徴付けられるＣＮＳの障害であり、睡眠障害（すなわち、不眠症、睡眠時異常行動、夜驚、概日リズム睡眠障害及びナルコレプシー）、気分障害（すなわち、うつ病、自殺性鬱病、不安、慢性情動障害、恐怖症、不安発作、強迫性障害、注意力欠損高活動性異常（ＡＤＨＤ）、注意欠陥障害（ＡＤＤ）、慢性疲労症候群、広場恐怖症、心的外傷後ストレス障害、双極性障害）、摂食障害（すなわち、食欲不振または過食症）、精神病、発達性行動障害（すなわち、自閉症、レット症候群、アスペルガー症候群）、人格障害及び精神障害（すなわち、精神分裂症、妄想性障害など）を挙げることができるが、これらに限定されない。

【０３０２】

行動障害の場合、非定型抗精神病薬（すなわち、リスペリドン、オランザピン、アリピプラゾール、クエチアピン、パリペリドン、アセナピン、クロザピン、イロペリドンとジプラシドン）、フェノサイアジン抗精神病薬（すなわち、プロクロルペラジン、クロルプロマジン、フルフェナジン、ペルフェナジン、トリフロペラジン、チオリダジンとメソリダジン）、チオキサンテン（すなわち、チオチキセン）、種々の抗精神病薬（すなわち、ピモジド、リチウム、モリンドン、ハロペリドール及びロクサピン）、選択的セロトニン再取り込み阻害薬（すなわち、シタロプラム、エスシタロプラム、パロキセチン、フルオキセチン及びセルトラリン）、セロトニン－ノルエピネフリン再取込み抑制剤（すなわちデュロキセチン、ベンラファキシン、デスベンラファキシン、三環系抗うつ薬（すなわち、ドキセピン、クロミプラミン、アモキサピン、ノルトリプチリン、アミトリプチリン、トリミプラミン、イミプラミン、プロトリプチリンとデシプラミン）、四環系抗うつ薬（すなわち、ミルタザピン及びマプロチリン）、フェニルピペラジン抗うつ薬（すなわち、トラゾドン及びネファゾドン）、モノアミンオキシダーゼ阻害剤（すなわち、イソカルボキサジド、フェネルジン、セレジリン及びトラニルシプロミン）、ベンゾジアゼピン（すなわち、アルプラゾラム、エスタゾラム、フルラゼパム、クロナゼパム、ロラゼパム及びジアゼパム）、ノルエピネフリン－ドーパミン再取込み抑制剤（すなわち、ブプロピオン）、ＣＮＳ覚醒剤（すなわち、フェンテルミン、ジエチルプロピオン、メタンフェタミン、デキストロアンフェタミン、アンフェタミン、メチルフェニデート、デクスメチルフェニダート、リスデキサンフェタミン、モダフィニル、ペモリン、フェンジメトラジン、ベンズフェタミン、フェンジメトラジン、アルモダフィニル、ジエチルプロピオン、カフェイン、アトモキセチン、ドキサプラム及びマジンドール）、抗不安薬／鎮静剤／催眠薬（バルビツール剤（すなわち、セコバルビタール、フェノバルビタール及びメフォバルビタール）、ベンゾジアゼピン（上述した）および種々の抗不安薬／鎮静剤／催眠薬（すなわちジフェンヒドラミン、ナトリウムオキシベート、ザレプロン、ヒドロキシジン、抱水クロラール、ａｏｌｐｉｄｅｍ、ブスピロン、ドキセピン、エスゾピクロン、ラメルテオン、メプロバメート及びエチクロルビノール）を含むがこれに限らない）、セクレチン（例えば、Ｒａｔｌｉｆｆ－Ｓｃｈａｕｂ ｅｔ ａｌ．Ａｕｔｉｓｍ ９： ２５６－２６５（２００５）を参照）、オピオイドペプチド（例えば、Ｃｏｗｅｎ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｎｅｕｒｏｃｈｅｍ．８９：２７３－２８５（２００４））を参照）、及びニューロペプチド（例えば、Ｈｅｔｈｗａ ｅｔ ａｌ．Ａｍ．Ｊ．Ｐｈｙｓｉｏｌ．２８９： Ｅ３０１－３０５（２００５）を参照）を含むが、これらに限定されない行動制御化合物から神経薬を選択することができる。

【０３０３】

リソソーム蓄積症は、場合によってはＣＮＳと関連しているか、またはＣＮＳ特異的症状を有する代謝障害であり、かかる障害としては、テイ－サックス病、ゴーシェ病、ファブリー（Ｆａｂｒｙ）病、ムコ多糖症（Ｉ型、ＩＩ型、ＩＩＩ型、ＩＶ型、Ｖ型、ＶＩ型及びＶＩＩ型）、糖原病、ＧＭ１ガングリオシド蓄積症、異染性ロイコジストロフィー、ファーバー（Ｆａｒｂｅｒ）病、カナバン病の白質萎縮症及び進行性神経疾患１型及び２型、ニーマン－ピック病、ポンペ病及びクラッベ病を挙げることができるが、これらに限定されない。

【０３０４】

リソソーム蓄積症の場合、病気を弱める酵素自体またはそうでなければそれに類似した神経薬を選択することができる。リソソーム蓄積症の治療用の例示的組換え体酵素は、例えば、米国特許出願公報第２００５／０１４２１４１号に記載さた当該酵素（すなわち、α－Ｌ－イズロニダーゼ、イズロネート－２－スルファターゼ、Ｎ－サルファターゼ、アルファ－Ｎ－アセチルグルコサミニダーゼ、Ｎ－アセチルガラクトサミン－６－サルファターゼ、ベーター－ガラクトシダーゼ、アリールスルファターゼＢ、ベーター－グルクロニダーゼ、酸アルファ－グルコシダーゼ、グルコセレブロシダーゼ、アルファ－ガラクトシダーゼＡ、ヘキソサミニダーゼＡ、酸性スフィンゴミエリナーゼ、ベーター－ガラクトセレブロシダーゼ、ベーター－ガラクトシダーゼ、アリールスルファターゼＡ、酸セラミダーゼ、

アスパルトアシラーゼ、パルミトイル－蛋白質チオエステラーゼ１、及びトリペプチジルアミノペプチダーゼ１）が挙げられるが、これらに限定されない。

【０３０５】

赤血球の不適当な産生過剰に関連または起因する病気、あるいは赤血球の産生過剰が病気に対する影響である病気は、少なくとも部分的なエフェクター機能を保持する抗ＴｆＲ抗体の本明細書でみなされた網状赤血球枯渇効果によって予防または治療することができる。例えば、先天性または腫瘍性真性多血症において、例えば網状赤血球の過剰増殖に起因する上昇した赤血球数が血液の濃厚化及び随伴性生理的症状をもたらす（ｄ’Ｏｎｏｆｒｉｏ ｅｔ ａｌ．，Ｃｌｉｎ．Ｌａｂ．Ｈａｅｍａｔｏｌ．（１９９６）Ｓｕｐｐｌ．１： ２９－３４）。抗体の少なくとも部分的なエフェクター機能が保存される本発明の抗ＴｆＲ／ＢＡＣＥ１多重特異性抗体の投与がＣＮＳへの正常トランスフェリン輸送に影響を与えることなく未熟な網状赤血球集団の選択的な除去を可能にするであろう。当該技術分野では十分に理解されているように、かかる抗体の投与は例えば急性臨床症状が最小化され得るように（すなわち、非常に低用量または広間隔のインターバルで投与することによって）調節できる。

【０３０６】

いくつかの態様において、症状の発現前に神経障害を検出するために、及び／または疾患若しくは障害の重症度または持続期間を評価するために本発明の抗体を使用する。いくつかの態様において、ラジオグラフィー、トモグラフィー、または磁気共鳴イメージング（ＭＲＩ）による画像化を含め、抗体が神経障害の検出及び／または画像化を可能にする。

【０３０７】

いくつかの態様において、薬剤として使用するための抗ＴｆＲ／ＢＡＣＥ１多重特異性抗体を提供する。いくつかの実施形態において、抗ＴｆＲ／ＢＡＣＥ１多重特異性抗体はＴｆＲに低い親和性を有する。更なる態様において、神経疾患または障害（例えばアルツハイマー病）の治療用の抗ＴｆＲ／ＢＡＣＥ１多重特異性抗体は、赤血球（すなわち、網状赤血球）を枯渇させることなく提供される。特定の実施形態において、本明細書に記載した治療方法に使用するＴｆＲに対し、低親和性を有した修飾した抗ＴｆＲ／ＢＡＣＥ１多重特異性抗体が提供される。特定の実施形態において、本発明は、有効量の抗ＴｆＲ／ＢＡＣＥ１抗体を個体に投与することを含む、神経疾患または障害を有する個体の治療方法用に安全性を改善するために修飾した抗ＴｆＲ／ＢＡＣＥ１多重特異性抗体を提供する。１つのかかる実施形態において、方法は、少なくとも１つの追加的治療薬の有効量を個体に投与することを更に含む。更なる実施形態において、本発明は、神経疾患または障害（例えばアルツハイマー病）のリスクまたは罹患患者のアミロイド斑形成減少または抑制用の安全性を改善するために修飾した抗ＴｆＲ／ＢＡＣＥ１多重特異性抗体を提供する。任意な上の実施形態に従った「個体」は任意選択でヒトである。特定の態様において、本発明の方法に使用する本発明の抗ＴｆＲ／ＢＡＣＥ１多重特異性抗体は、結合される神経障害薬剤の取込みを改善する。

【０３０８】

更なる態様において、本発明は、薬剤の製造または調製で本発明の抗ＴｆＲ／ＢＡＣＥ１多重特異性抗体を使用するために提供する。いくつかの実施形態において、抗ＴｆＲ／ＢＡＣＥ１多重特異性抗体はＴｆＲに低い親和性を有する。いくつかの実施形態において、薬剤が神経疾患または障害の治療用である。更なる実施形態において、本発明は、有効量の抗ＴｆＲ／ＢＡＣＥ１抗体を、神経疾患または障害を有する個体に投与することを含む、神経疾患または障害の治療方法に使用する。１つのかかる実施形態において、方法は、少なくとも１つの追加的治療薬の有効量を個体に投与することを更に含む。

【０３０９】

更なる態様において、本発明はアルツハイマー病の治療方法を提供する。いくつかの実施形態において、方法は、本発明の有効量の抗ＴｆＲ／ＢＡＣＥ１多重特異性抗体を、アルツハイマー病を有する個体に投与することを含む。１つのかかる実施形態において、方

法は、少なくとも１つの追加的治療薬の有効量を個体に投与することを更に含む。上の実施形態のいずれかによる「個体」は、ヒトであり得る。

【０３１０】

本発明の抗ＴｆＲ／ＢＡＣＥ１多重特異性抗体は、治療法において、単独で、または他の薬剤と組み合わせてのいずれかで使用することができる。例えば、本発明の抗ＴｆＲ／ＢＡＣＥ１多重特異性抗体は、少なくとも１つの追加の治療剤と同時投与されてもよい。ある特定の実施形態において、追加的治療薬は、抗ＴｆＲ／ＢＡＣＥ１多重特異性抗体が治療に用いられるのと同じまたは異なる神経障害を治療するのに有効な治療薬である。例示的な更なる治療薬としては、上述した様々な神経薬、コリンエステラーゼ抑制因子（例えばドネペジル、ガランタミン、リバスチグミン（ｒｏｖａｓｔｉｇｍｉｎｅ）、及びタクリン）、ＮＭＤＡ受容体拮抗剤（例えばメマンチン）、アミロイドベータペプチド凝集阻害剤、酸化防止剤、γ－セクレターゼ修飾因子、神経成長因子（ＮＧＦ）模倣体またはＮＧＦ遺伝子治療、ＰＰＡＲγアゴニスト、ＨＭＳ－ＣｏＡ還元酵素抑制剤（スタチン）、アンパキン、カルシウムチャネル遮断薬、ＧＡＢＡ受容体拮抗剤、グリコゲンシンターゼキナーゼ抑制剤、静脈免疫グロブリン、ムスカリン受容体アゴニスト、ニコチニック受容体修飾因子、能動的または受動的アミロイドベータペプチド免疫化、ホスホジエステラーゼ抑制剤、セロトニン受容体拮抗剤及び抗アミロイドベータペプチド抗体を挙げることができるが、これらに限定されない。ある特定の実施形態において、少なくとも１つの追加的治療薬は神経薬の１つ以上の副作用の緩和能力のために選択される。

【０３１１】

本明細書で例証したように、特定の抗ＴｆＲ／ＢＡＣＥ１多重特異性抗体は、抗ＴｆＲ／ＢＡＣＥ１多重特異性抗体で治療した対象の網状赤血球集団に負の影響を与える副作用をもち得る。このように、ある特定の実施形態において、網状赤血球集団への前記の負の副作用を緩和する能力について選択した少なくとも１つの追加的治療薬は、本発明の抗ＴｆＲ／ＢＡＣＥ１多重特異性抗体抗同時に投与する。かかる治療薬の例としては、赤血球（すなわち、網状赤血球）集団を増加させる薬剤、赤血球（すなわち、網状赤血球）の成長と発達を支持する薬剤、及び抗ＴｆＲ／ＢＡＣＥ１多重特異性抗体の影響から赤血球集団を保護する薬剤を挙げることができ、かかる薬剤としては、エリスロポエチン（ＥＰＯ）、鉄分強壮剤、ビタミンＣ、葉酸及びビタミンＢ１２、ならびに、例えば、類似細胞の注入による赤血球（すなわち、網状赤血球）の物理的置換（類似細胞は、類似の血液型の別個体に由来してもよく、または抗ＴｆＲ／ＢＡＣＥ１多重特異性抗体が投与される対象から以前に抽出していたものでもよい）が挙げられるが、これらに限定されない。既存の赤血球（すなわち、網状赤血球）の保護を意図した薬剤は、好ましくは抗ＴｆＲ／ＢＡＣＥ１多重特異性抗体治療に先行して、または同時に対象へ投与する一方、赤血球または赤血球集団（すなわち網状赤血球または網状赤血球集団）の再成長／発達を支持または誘導することを意図した薬剤は、例えば、かかる赤血球が抗ＴｆＲ／ＢＡＣＥ１多重特異性抗体治療の後に補充することが可能なように、好ましくは、抗ＴｆＲ／ＢＡＣＥ１多重特異性抗体治療と同時、または後に投与することは、当業者は理解するであろう。

【０３１２】

ある特定の他のかかる実施形態において、少なくとも１つの更なる治療薬が、抗ＴｆＲ／ＢＡＣＥ１多重特異性抗体の投与と同時に、補体経路の活性化を抑制または予防する能力について選択される。かかる治療薬の例としては、限定はされないが、抗ＴｆＲ／ＢＡＣＥ１多重特異性抗体の補体経路に結合するか、または活性化する能力と干渉する薬剤、補体経路内での１つ以上の分子相互作用を抑制する薬剤、及び参照によりそれらの全体が明示的に組み込まれるＭｏｌｌｎｅｓ ａｎｄ Ｋｉｒｓｃｈｆｉｎｋ（２００６）Ｍｏｌｅｃ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．４３：１０７－１２１に記載されている薬剤が挙げられる。

【０３１３】

上のかかる併用療法は、組み合わせた投与（２つ以上の治療剤が同じまたは別個の製剤中に含まれる）、および別個の投与を包含し、別個の投与の場合、本発明の抗体の投与は、追加の治療剤および／またはアジュバントの投与の前、それと同時、および／またはそ

の後に生じ得る。いくつかの実施形態において、抗ＴｆＲ／ＢＡＣＥ１多重特異性抗体の投与及び追加の治療剤の投与は、互いに約１か月以内、または約１週間、２週間、若しくは３週間以内、または約１日、２日、３日、４日、５日、若しくは６日以内に発生する。本発明の抗体は、他の介入療法（例えば、放射線療法、行動療法、または治療若しくは予防される神経障害の当該技術分野において公知で適切な他の治療法）と組み合わせて使用することもできる。

【０３１４】

本発明の抗ＴｆＲ／ＢＡＣＥ１多重特異性抗体（および任意の追加の治療剤）は、非経口、肺内、および鼻腔内、ならびに局所両方のために所望される場合、病変内投与を含む、任意の好適な手段によって投与することができる。非経口注入には、筋肉内、静脈内、動脈内、腹腔内、または皮下投与が含まれる。投薬は、任意の好適な経路による、例えば、投与が短時間であるか長期であるかに部分的に応じて、静脈内または皮下注射等の、注射によるものであり得る。単回または種々の時点にわたる複数回投与、ボーラス投与、およびパルス注入を含むが、これらに限定されない、種々の投薬スケジュールが本明細書で企図される。

【０３１５】

本発明の抗体は、良好な医療行為と一致した様式で、製剤化され、投薬され、投与されるであろう。この文脈における考慮の要因には、治療されている特定の障害、治療されている特定の哺乳動物、個々の患者の臨床的病態、障害の原因、薬剤の送達部位、投与方法、投与のスケジュール管理、および医療従事者に既知の他の要因が含まれる。抗体は、必要ではないが、任意に、問題の障害を予防または治療するために、あるいは抗体の投与の１つ以上の副作用を予防、緩和または回復するために現在使用される１つ以上の薬剤と共に製剤化される。かかる他の薬剤の有効量は、製剤中に存在する抗体の量、障害または治療の種類、および上に考察された他の要因に依存する。これらは、一般に、本明細書に記載されるのと同じ投薬量で、本明細書に記載される投与経路により、または本明細書に記載される投薬量の約１～９９％、または適切であると経験的／臨床的に決定される任意の投薬量で、任意の経路によって、使用される。

【０３１６】

疾患の予防または治療のために、本発明の抗体の適切な投薬量（単独でまたは１つ以上の他の追加の治療剤と組み合わせて使用されるとき）は、治療対象の疾患の種類、抗体の種類、疾患の重症度および経過、抗体が予防目的または治療目的で投与されるかどうか、以前の治療法、患者の病歴および抗体への反応、ならびに主治医の裁量に依存するであろう。抗体は、患者に、１回で、または一連の治療にわたって、好適に投与される。疾患の種類および重症度に応じて、例えば、１回以上の別個の投与によってであれ、連続注入によってであれ、約１μｇ／ｋｇ～１５ｍｇ／ｋｇ（例えば、０．１ｍｇ／ｋｇ～１０ｍｇ／ｋｇ）の抗体が、患者への投与のための初回の候補投薬量であり得る。１つの典型的な１日投薬量は、上述の要因に応じて、約１μｇ／ｋｇ～１００ｍｇ／ｋｇ以上の範囲であり得る。病態に応じて数日間またはより長い日数にわたる反復投与について、治療は、一般に、疾患症状の所望の抑制が生じるまで持続されるであろう。抗体の１つの例示的な投薬量は、約０．０５ｍｇ／ｋｇ～約４０ｍｇ／ｋｇの範囲内となる。従って、約０．５ｍｇ／ｋｇ、２．０ｍｇ／ｋｇ、４．０ｍｇ／ｋｇ、５．０ｍｇ／ｋｇ、７．５ｍｇ／ｋｇ、１０ｍｇ／ｋｇ、１５ｍｇ／ｋｇ、２０ｍｇ／ｋｇ、２５ｍｇ／ｋｇ、３０ｍｇ／ｋｇ、３５ｍｇ／ｋｇ、または４０ｍｇ／ｋｇ（若しくはこれらの任意の組み合わせ）の１回以上の用量が患者に投与され得る。かかる用量は、断続的に、例えば、毎週または３週間毎に（例えば、患者が抗体の約２～約２０回、または例えば、約６回用量を受容するように）投与されてもよい。初回のより高い負荷用量、続いて１回以上のより低い用量が投与されてもよい。しかしながら、他の投薬レジメンが有用な場合がある。抗ＴｆＲ／ＢＡＣＥ１多重特異性抗体の投与による網状赤血球集団に及ぼす影響を低減する１つの方法は、例えば、全体の循環抗体がより低量で網状赤血球と相互作用する血流に存在するように薬注の量またはタイミングを調節することであることは理解されよう。１つの非限定例にお

いて、抗ＴｆＲ／ＢＡＣＥ１多重特異性抗体の用量が小さいほど、用量が大きくなる場合より、より多い頻度で投与することができる。使用する投与量は、ＣＮＳへの輸送に必要な抗体量（それ自体は抗体のＣＮＳ抗原特異性部分の親和性と関係）、ＴｆＲに対する抗体の親和性、ならびに赤血球（すなわち、網状赤血球）－保護、成長及び発達－刺激化合物（複数）あるいは補体経路－抑制化合物（複数）が抗体と同時または順次に投与できるか否かの間をバランスさせることができる。この治療の進行は従来技術及び本明細書に記載したアッセイ若しくは当該技術分野で公知なアッセイによって容易に監視される。

【０３１７】

上の製剤または治療方法のうちのいずれも、抗ＴｆＲ／ＢＡＣＥ１多重特異性抗体の代わりにまたは加えて本発明の免疫複合体を使用して行われ得ることが理解される。

【０３１８】

Ｈ．　製品

本発明の別の態様において、上述の障害の治療、予防、および／または診断に有用な物質を含有する製品が提供される。製品は、容器、および容器上のまたは容器と関連したラベルまたは添付文書を含む。好適な容器としては、例えばビン、バイアル、注射器、ＩＶ溶液バッグなどが挙げられる。容器は、ガラスまたはプラスチックなどの様々な材料から）から成形することができる。容器は、組成物を、それ自体で、または症状を治療する、予防する、および／もしくは診断するのに有効な別の組成物と組み合わせて保有し、また滅菌アクセスポートを有し得る（例えば容器は、静脈注射用溶液バッグまたは皮下注射針によって貫通可能な栓を有するバイアルであり得る）。組成物中の少なくとも１つの活性な薬剤は、本発明の抗体である。ラベルまたは添付文書は、組成物が選定した病態を治療するために使用されることを表示する。さらに、製品は、（ａ）組成物がその中に含有された第１の容器（この組成物は本発明の抗体を含む）、および（ｂ）組成物がその中に含有された第２の容器（この組成物はさらなる細胞傷害性薬剤または治療剤を含む）を含んでもよい。本発明のこの実施形態の製品は、組成物が特定の病態を治療するために使用され得ることを表示する、添付文書をさらに含んでもよい。代替または追加として、製品は、注射用静菌水（ＢＷＦＩ）、リン酸緩衝食塩水、リンガー溶液、及びデキストロース溶液といった、薬学的に許容されるバッファーを含む第２（または第３）の容器を更に含んでもよい。それは、他のバッファー、希釈剤、フィルター、針、およびシリンジを含む、商業的およびユーザの立場から望ましい他の材料をさらに含んでもよい。

【０３１９】

上の製品のうちのいずれも、本発明の二重特異性抗体の代わりにまたは加えて本発明の二重特異性免疫複合体を含むことができる。

【実施例】

【０３２０】

実施例１：ヒト／カニクイザル交差反応性反ＴＦＲ抗体の作製、特性付け及びヒト化

最初に、ナイーブ抗体ファージパンニング法を、ヒトＴｆＲとカニクイザル（「ｃｙｎｏ」）のＴｆＲ（ＴｆＲへの結合で、Ｔｆと一層競合しない）の両方と交差反応性を示す抗体を同定する試みで行った（Ｌｅｅ　ｅｔ　ａｌ．ＪＭＢ（２００４）１０７３－１０９３）。かかる交差反応がない、非－Ｔｆ－競合クローンをファージパンニング法から同定した。しかし、その後発生するハイブリドーマクローンを特徴付けるのに有用な２つの抗体を同定した。

【０３２１】

ヒトまたはカニクイザルＴｆＲ（Ｔｆ－競合抗体）への結合で競合する種交差反応性抗体を同定した。ヒトＴｆＲに特異的な、別のクローンのエピトープをマウス／ヒトキメラＴｆＲ受容体を使用してｈｕＴｆＲの先端ドメインにマッピングした（図１）。先端ドメインのマウスＴｆＲ　配列がｈｕＴｆＲへ置き替えられた場合、この先端ドメイン結合クローンはｈｕＴｆＲ　への結合性を喪失した。

【０３２２】

次に、交差反応性抗ヒト／ｃｙｎｏ　ＴｆＲ抗体を作製するための免疫化に基づく手法

を実施した。Ｎ－末端Ｈｉｓタグ及びヒト血色素症蛋白質（「ＨＦＥ」）を含むヒトＴｆＲ細胞外ドメイン（「ｅｃｄ」）を発現し、記載通りに精製した（Ｂｅｎｎｅｔ ｅｔａｌ，Ｎａｔｕｒｅ（２０００）４０３，４６－５３）。類似したｃｙｎｏ ＴｆＲ ｅｃｄも作製した。Ｃｙｎｏ ＴｆＲを発現し、同様の方法で精製した。５匹のＢａｌｂ／Ｃマウスを肉球に6回投与（週当たり２回）して免疫化し、ヒト及びｃｙｎｏ交差反応性ＴｆＲ抗体を作製した。全マウスの血清がＦＡＣＳ 法に陽性を示し、全マウスが融合した。スクリーニングした１６３２のハイブリドーマのうち、１１１がヒト及びｃｙｎｏＴｆＲの両方への結合に陽性であった。

【０３２３】

得られたＥＬＩＳＡ陽性のハイブリドーマを、１μＭヒトホロ（ｈｏｌｏ）－Ｔｆの存在下、ヒトまたはｃｙｎｏ ＴｆＲを過渡的に発現する２９３個の細胞への結合についてスクリーニングした。簡潔には、ＦＡＣＳ分析の４８～７２時間前に、リポフェクトアミン２０００プラス（インビトロゲン）を使用して完全長ヒトまたはｃｙｎｏ ＴｆＲをトランスフェクトした２９３個の細胞を使ってＦＡＣＳ法を行った。非トランスフェクト（対照）及びトランスフェクトした２９３個の細胞をＦＡＣＳバッファー（１％ＢＳＡを含有するＰＢＳ）で洗浄し、５０μｌのハイブリドーマ上清（１０μｇ／ｍｌに正規化）を１μＭのヒトホロ－Ｔｆの存在下で２９３個の細胞に加え、氷上で３０分間インキュベートした。細胞をＦＡＣＳバッファーで2回洗浄し、５０μｌのＰＥ－ヤギ抗マウスＦｃγ（Ｊａｃｋｓｏｎ ＩｍｍｕｎｏＲｅｓｅａｒｃｈ）を細胞に加え、３０分間インキュベートした。細胞をＦＡＣＳバッファーで洗浄し、分析のため、１００μｌのＦＡＣＳ バッファーに懸濁させた。

【０３２４】

１４のクローンがヒト及びｃｙｎｏ ＴｆＲ結合に陽性であった（図２Ａ及び２Ｂ）。これらのクローンを更にサブクローン化し、ＥＬＩＳＡでヒト及びｃｙｎｏ ＴｆＲの両方への結合について評価し、上で同定した先端結合ファージクローンを使ってｈｕＴｆＲ上にエピトープをマッピングした。簡潔には、２μｇ／ｍｌの精製ヒトまたはｃｙｎｏ ＴｆＲ被覆マキシソーププレートで先端ドメインファージ競合ＥＬＩＳＡを４℃で一晩行った。プレートをＰＢＳ／０．０５％のＴｗｅｅｎ２０で洗浄し、カゼイン（Ｔｈｅｒｍｏ Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ，Ｈｕｄｓｏｎ，ＮＨ）を含むＳｕｐｅｒｂｌｏｃｋを使用してブロックした。分注された３０μｌのハイブリドーマ上清（１０μｇ／ｍｌに正規化）を各ウエルに４５分間加えた。この後、３０μｌの先端ドメイン結合ファージをＯＤ値０．０５で１５分間添加した。プレートをＰＢＳ／０．０５％Ｔｗｅｅｎ２０で洗浄し、１：１０００ に希釈したＨＲＰ－マウス－抗Ｍ１３（ＧＥ ｈｅａｌｔｈｃａｒｅ）をプレートに加えて、室温で1時間インキュベートした。プレートをＰＢＳ／０．０５％Ｔｗｅｅｎ２０で洗浄し、結合ファージをＴＭＢ基質（ＢｉｏＦＸ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ，Ｏｗｉｎｇｓ Ｍｉｌｌｓ）を使って検出した。１４個のクローンのうち９個がファージ上に表示された先端結合抗体の結合をブロックすることがわかった（図２Ｃ参照）。

【０３２５】

抗体親和性は、表面プラズモン共鳴（「ＳＰＲ」）を使用して測定した（Ｂｉａｃｏｒｅ（商標），ＧＥ Ｈｅａｌｔｈｃａｒｅ）。抗－Ｈｉｓ抗体（Ｑｉａｇｅｎ）をＢＩＡＣＯＲＥ（商標）ＣＭ５センサーチップ（Ｂｉａｃｏｒｅ，Ｉｎｃ．，Ｐｉｓｃａｔａｗａｙ，ＮＪ）の４つの異なるフローセル上に６０００～８０００のＲＵで結合させた。固定化は、製造者により提供されたプロトコルを用いてアミノ基を通してランダム結合によって達成した。１０Ｘ ＨＢＳ－Ｐ（Ｂｉａｃｏｒｅ，Ｉｎｃ．、Ｐｉｓｃａｔａｗａｙ、ＮＪ）を水で希釈し、希釈用及び泳動用バッファーとして供給した。精製したビオチン標識ヒトまたはｃｙｎｏ ＴｆＲを捕捉し、次いで、シングルサイクルカイネティクス解析方法によって3倍希釈系列のＩｇＧまたはＦａｂを流速３０ｍｌ／分で注入した。k_{on}またはk_{off} が検出限界を超えた場合、単純一対一ラングミュア結合モデルまたは定常状態モデルを使用して親和性定数を決定した。平衡解離定数（K_D）は、結合速度定数（（k_{on}）と解離速度定数（k_{off}）の比率として計算した 結果を図２Ｃに示す

。

【０３２６】

各ハイブリドーマをクローン化した。全ＲＮＡを、ＲＮｅａｓｙミニキット（Ｑｉａｇｅｎ）を使用してハイブリドーマから単離した。ｃＤＮＡをＳＭＡＲＴ　５’　ＲＡＣＥ　ｃＤＮＡ　増幅キット（Ｃｌｏｎｔｅｃｈ）を使用し、製造者の指示書に基づいて作製した。各抗体の可変領域を、キットで提供されたＵＰＭ（５’　オリゴ）と定常領域へアニーリングする３’オリゴを用いて増幅した。次いで、全ＰＣＲ産物を塩基配列決定のためにｐＣＲ４Ｂｌｕｎｔ－ＴＯＰＯベクターにクローン化した。塩基配列解析の後、ハイブリドーマを更に４群（図３Ａ－３Ｄ）に再分割した。抗体の先端での結合と競合するクローンを３つの関連配列クラスに分類した（図３Ａ－３Ｃ）。４つの非先端クローン（図３Ｄ）は２つの関連クローンと２つの他の独特な配列からなった。各クローンの軽鎖及び重鎖ＣＤＲを表３に提供する。

表３：交差反応性抗ｃｙｎｏ／ヒトＴｆＲ抗体の軽鎖及び重鎖ＣＤＲ

クローン名	重鎖／軽鎖	HVR1	配列番号#	HVR2	配列番号#	HVR3	配列番号#
7A4	軽鎖	RASESVDSYGNSFMH	29	RASNLES	30	QQSNEAPPT	31
	重鎖	DYAMH	32	GISTYFGRTNYNQKFKG	33	GLSGNYVMDY	34
8A2	軽鎖	RASESVDSYGNSFMH	35	RASNLES	30	QQSNEGPPT	36
	重鎖	DYGMH	37	VISPYSGRTNYNQNFKG	38	GLSGNYVVDY	39
15D2	軽鎖	RASESVDSYGNSFMH	35	RASNLES	30	QQSNEGPPT	36
	重鎖	DYAMH	32	VISFYSGKTNYNQKFMG	40	GLSGNYVMDY	34
10D11	軽鎖	RASESVDSYGNSFMH	41	RASNLES	30	QHSNEDPPT	42
	重鎖	DYGMH	37	VISPYSGKTNYSQKFKG	43	GLSGNFVMDF	44
7B10	軽鎖	RASESVDSYGNSFMH	29	RASNLES	30	QQSNEAPPT	31
	重鎖	DYAMH	32	GISTYFGRTNYNQKFKG	33	GLSGNYVMDY	34
コンセンサスクラスI軽鎖CDRs		RASESVD(S/D)YG(N/P)SFMH	45	RASNLES	30	Q(Q/H)SNE(A/G/D)PPT	46
コンセンサスクラスII重鎖CDRs		DY(A/G)MH	47	(G/V)IS(T/F/P)Y(F/S)G(R/K)TNY(N/S)Q(K/N)F(K/M)G	48	GLSGN(Y/F)V(M/V)D(Y/F)	49
15G11	軽鎖	RASDNLYSNLA	50	DATNLAD	51	QHFWGTPLT	52
	重鎖	SYWMH	53	EINPTNGRTNYIEKFKS	54	GTRAYHY	55
16G5	軽鎖	RASENIYSNLA	56	AATDLAD	57	QHFWGTPLT	52
	重鎖	SYWMH	53	EINPTNGRTNYNENFKS	58	GTRAYHF	59
13C3	軽鎖	RASDNIYSNLA	60	AATNLAD	61	QHFWGTPLM	62

	重鎖	SYWMH	53	EINPINGRTNYSEKFKK	63	GTRAYHY	55
16G4	軽鎖	RASDNIYSNLA	60	AVTNLAD	64	QHFWGTPLT	52
	重鎖	SYWMH	53	EINPSNGRTNYNETFKS	65	GTRAYHY	55
コンセンサスクラスII軽鎖CDRs		RAS(E/D)N(L/I)YSNLA	66	(D/A)(A/V)T(N/D)LAD	67	QHFWGTPL(T/M)	68
コンセンサスクラスII重鎖CDRs		SYWMH	53	EINP(T/I/S)NGRTNY(I/N/S)E(K/N/T)FK(S/K)	69	GTRAYH(Y/F)	70
16F6	軽鎖	RASKSISKYLA	71	SGSTLQS	72	QQHNEYPWT	73
	重鎖	SEYAWN	74	YISYSGTTSYNPSLKS	75	YGYGNPATRYFDV	76
7G7	軽鎖	RARQSVSTSSYSFMH	77	YASIQES	78	QHTWEIPFT	79
	重鎖	SYWMH	80	NIYPGSGSTKYDERFKS	81	GGYDSRAWFAY	82
4C2	軽鎖	RARQSVSTSSYSFMH	77	YASIQES	78	QHTWEIPFT	79
	重鎖	SYWMH	80	NIYPGSGSTKYDEKFKS	83	GGYDSRAWFAH	84
1B12	軽鎖	TTSSSVPSSYFH	85	STSNLAS	86	HQYHRSPFT	87
	重鎖	DYYMY	88	SISNGGDNTYYPDTVKG	89	QGALYDGYYRGAMDY	90
13D4	軽鎖	RAGQDITNYLN	91	YTSRLHS	92	QQANTLPYT	93
	重鎖	NYWIE	94	EILPGSGSTKYNEKFKG	95	RGGYGYDGEFAY	96
コンセンサスクラスIV軽鎖CDRs		(R/T)(A/T)(R/S/G)(Q/S)(S/-)(V/-)(S/-)(T/-)(S/V/D)(S/P/I)(Y/S/T)(S/N)(F/Y)(M/F/L)(H/N)	97	(Y/S)(A/T)S(I/N/R)(Q/L)(E/A/H)S	98	(Q/H)(H/Q)(T/Y/A)(W/H/N)(E/R/T)(I/S/L)P(F/Y)T	99
コンセンサスクラスIV重鎖CDRs		(S/D/N)Y(W/Y)(M/I)(H/Y/E)	100	(N/S/E)I(Y/S/L)(P/N)G(S/G)(G/D	101	(G/Q/R)G(Y/A/G)(D/L/Y	102

			)(S/N)T(K/Y)Y(D/P/N)(E/D)(R/K/T)(F/V)K(S/G)		)(S/Y/G)(R/D/Y)(A/G/D)(W/Y/G)(F/Y/E)(R/F/-)(G/-)(A/-)(M/-)(A/D)(Y/H)	

【０３２７】

ヒト化で各クラスの代表的クローン（１５Ｇ１１，７Ａ４，１６Ｆ６及びＧ７）を上表に例示し、更に特徴づけした。ヒト化は、下記および図４Ａ～４Ｅに略図で示す通り、選択したバーニヤ位置の包含物と一緒にＨＶＲをグラフト化することで達成した。１５Ｇ１１は、ＩＧＫＶ１－ＮＬ１＊０１及びＩＧＨＶ１－３＊０１ヒト可変ドメインにＨＶＲをグラフト化することによってヒト化した。図４Ｅで概説するように、異なるマウス・バーニヤ位置の組合せをヒト化変異体に含めた。図４Ａで概説するように、ヒト化１５Ｇ１１変異体１５Ｇ１１．ｖ５はＶＬ（位置４３及び４８）とＶＨ（位置４８、６７、６９、７１及び７３）で選択したバーニヤ位置を含んだ。加えて、ＶＨのＮ末端をＱからＥに変えた。７Ａ４のヒト化の場合、ＨＶＲグラフトは、７Ａ４　Ｈ重鎖と８Ａ２軽鎖ＨＶＲ（７Ａ４と８Ａ２は関連したクローン（図３Ａ）である）を使用して行った。ＩＧＫＶ４－１＊０１及びＩＧＨＶ１－２＊０２ヒト可変ドメインにＨＶＲをグラフト化した。図４Ｅで概説するように、異なるマウス・バーニヤ位置の組合せをヒト化変異体に含めた。図４Ａで概説するように、ヒト化７Ａ４変異体７Ａ４．ｖ１５はＶＬ（位置６８）とＶＨ（位置２４及び７１）に選択したバーニヤ位置を含み、またＣＤＲ－Ｌ３がＧ９４Ａで変化がある。図４Ｃで概説するように、７Ｇ７は、ＨＶＲをＶＨの選択バーニヤ位置（位置９３）と一緒にカッパ（鎖）４及びサブグループＩヒトコンセンサス可変ドメインにグラフト化することによってヒト化した。本ヒト化変異体を７Ｇ７．ｖ１と呼ぶ。１６Ｆ６は、ＩＧＫＶ１－９＊０１及びＩＧＨＶ４－５９＊０１ヒト可変ドメインにＨＶＲをグラフト化することによってヒト化した。図４Ｅで概説するように、異なるマウス・バーニヤ位置の組合せをヒト化変異体に含めた。図４Ｄで概説するように、ヒト化１６Ｆ６変異体１６Ｆ６．ｖ４は、ＶＬ（Ｉ４８ＬとＦ７１Ｙ）ならびにＶＬ（位置４３と４４）及びＶＨ（位置７１と７８）で選択したバーニヤ位置に２つの変化を含んだ。

表４：ヒト化抗体／Ｆａｂの軽鎖及び重鎖ＣＤＲ

クローン名	重鎖／軽鎖	CDR1	配列番号	CDR2	配列番号	CDR3	配列番号#
15G11.v5	軽鎖	RASDNLYSNLA	50	DATNLAD	51	QHFWGTPLT	52
	重鎖	SYWMH	53	EINPTNGRTNYIEKFKS	54	GTRAYHY	55
7A4.v15	軽鎖	RASESVDSYGNSFMH	29	RASNLES	30	QQSNEAPPT	127
	重鎖	DYAMH	32	GISTYFGRTNYNQKFKG	33	GLSGNYVMDY	34
7G7.v1	軽鎖	RARQSVSTSSYSFMH	77	YASIQES	78	QHTWEIPFT	79
	重鎖	SYWMH	80	NIYPGSGSTKYDERFKS	81	GGYDSRAWFAY	82
16F6.v4	軽鎖	RASKSISKYLA	71	SGSTLQS	72	QQHNEYPWT	73
	重鎖	SEYAWN	74	YISYSGTTSYNPSLKS	75	YGYGNPATRYFDV	76

【０３２８】

ヒト及びｃｙｎｏ　ＴｆＲに対するヒト化変異体の親和性は、ＩｇＧとしてＳＰＲによって決定した。選択したクローンは、一価親和性を評価するためにＦａｂとしてでもＳＰＲによって分析した（表７）。両方の場合、上で記載するようにＳＰＲ実験を行った。

表５：選択したＦａｂフォーマット化変異体のＢｉａｃｏｒｅ結合データ

	ヒトTfR			CynoTfR			Cy/hu
試料	Ka	Kd	KD	Ka	Kd	KD	ratio
Mu15G11.Fab	1.38E+06	4.65E-03	3.37E-09	1.07E+06	6.23E-03	5.81E-09	1.72
Mu15G11.Fab	6.34E+05	1.52E-03	2.41E-09	4.85E+05	3.68E-03	7.57E-09	3.15
Hu15G11.v1.Fab	6.38E+05	0.006986	1.09E-08	5.05E+05	0.0373	7.39E-08	
Hu15G11.v3.Fab	6.42E+05	0.004657	7.26E-09	4.83E+05	0.0201	1.09E-08	
Hu15G11.v5.Fab	4.56E+05	0.004063	8.91E-09				
hu15G11.v5.Fab	7.76E+05	0.003643	4.70E-09	1.41E+06	0.02184	1.56E-08	3.4
Mu7A4.Fab	1.65E+06	3.13E-04	1.90E-10	1.14E+06	8.45E-04	7.41E-10	3.9
Hu7A4.v5.Fab	2.24E+06	1.53E-03	6.86E-10	1.18E+06	6.41E-03	5.44E-09	
Hu7A4.v8.Fab	9.28E+05	1.07E-03	1.15E-09	7.97E+05	6.81E-03	8.55E-09	
Hu7A4.v9.Fab	1.71E+06	6.86E-04	4.01E-10	8.08E+05	3.42E-03	4.23E-09	
Hu7A4.v12.Fab	3.32E+06	8.44E-04	2.55E-10	1.74E+06	3.31E-03	1.90E-09	
hu7A4.v15.Fab	9.10E+05	3.17E-04	3.48E-10	3.78E+05	0.001618	4.28E-09	11
Hu7G7.v1 Fab	1.44E+05	0.006594	4.58E-08	3.84E+04	0.007231	1.88E-07	4.4
Mu16F6.Fab	6.07E+04	1.90E-04	3.13E-09	5.11E+04	1.37E-03	2.68E-08	8.56
Hu16F6.v4.Fab	1.31E+05	1.69E-04	1.29E-09	9.89E+04	2.44E-03	2.47E-08	19.1

【０３２９】

抗体の結合エピトープを以下の通りに再確認した。Ｔｆ－ＴｆＲブロックＥＬＩＳＡを、一晩、４℃でＰＢＳ中、２μｇ／ｍｌの精製ヒトまたはｃｙｎｏ　ＴｆＲで被覆したマキシソーププレートで行った。プレートをＰＢＳ／０．０５％のＴｗｅｅｎ２０で洗浄し

、ＰＢＳ（Ｔｈｅｒｍｏ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ，Ｈｕｄｓｏｎ，ＮＨ）中、ＳｕｐｅｒＢｌｏｃｋ　ブロッキングバッファーを使用してブロック化した。５０μｌの１２．５μＭヒトｈｏｌｏ－Ｔｆ（Ｒ＆Ｄ　Ｓｙｓｔｅｍｓ，Ｍｉｎｎｅａｐｏｌｉｓ，ＭＮ）を４０分間プレートに加えた。ｈｕ７Ａ４．ｖ１５、ｈｕ１５Ｇ１１．ｖ５、Ｔｆ競合抗体、及びｈｕ７Ｇ７．ｖ１の５０μｌの滴定液（１０ｕｇ／ｍｌで開始、１：３の連続希釈）をプレートに追加し、２０分間インキュベートした。プレートをＰＢＳ／０．０５％Ｔｗｅｅｎ２０で洗浄し、１：１０００　に希釈したＨＲＰ－ヤギ－抗ヒトＦｃγ（Ｊａｃｋｓｏｎ　ＩｍｍｕｎｏＲｅｓｅａｒｃｈ）をプレートに加えて、室温で１時間インキュベートした。プレートをＰＢＳ／０．０５％Ｔｗｅｅｎ２０で洗浄し、ＴＭＢ基質（ＢｉｏＦＸ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ，Ｏｗｉｎｇｓ　Ｍｉｌｌｓ）を使って検出した。

【０３３０】

ＨＦＥ－ＴｆＲ結合ＥＬＩＳＡを、一晩、４℃でＰＢＳ中、１μｇ／ｍｌのＨＦＥで被覆したマキシソーププレートで行った。プレートをＰＢＳ／０．０５％のＴｗｅｅｎ２０で洗浄し、ＰＢＳ（Ｔｈｅｒｍｏ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ，Ｈｕｄｓｏｎ，ＮＨ）中、ＳｕｐｅｒＢｌｏｃｋ　ブロッキングバッファーを使用してブロック化した。ヒトＴｆＲの滴定液（１００ｕｇ／ｍｌで開始、１：３の階段希釈）をプレートに追加し、１時間インキュベートした。次いで、１μｇ／ｍｌのｈｕ１５Ｇ１１．ｖ５，ｈｕ７Ａ４．ｖ１５又は　ｈｕ７Ｇ７．ｖ１をプレートに１時間加えた。プレートをＰＢＳ／０．０５％Ｔｗｅｅｎ２０で洗浄し、１：１０００に希釈したＨＲＰ－ヤギ抗ヒトＦｃγ（Ｊａｃｋｓｏｎ　ＩｍｍｕｎｏＲｅｓｅａｒｃｈ）をプレートに加えて、室温で１時間インキュベートした。プレートをＰＢＳ／０．０５％Ｔｗｅｅｎ２０で洗浄し、ＴＭＢ基質（ＢｉｏＦＸ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ，Ｏｗｉｎｇｓ　Ｍｉｌｌｓ）を使って検出した。ＨＦＥ－ＴｆＲブロッキングＥＬＩＳＡを、一晩、４℃でＰＢＳ中、１μｇ／ｍｌのＨＦＥで被覆したマキシソーププレートで行った。プレートをＰＢＳ／０．０５％のＴｗｅｅｎ２０で洗浄し、ＰＢＳ（Ｔｈｅｒｍｏ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ，Ｈｕｄｓｏｎ，ＮＨ）中、ＳｕｐｅｒＢｌｏｃｋ　ブロッキングバッファーを使用してブロック化した。ＮＵＮＣ（登録商標）プレートで、ｈｕ７Ａ４．ｖ１５、ｈｕ１５Ｇ１１．ｖ５、Ｔｆ競合抗体、ヒトｈｏｌｏ－Ｔｆ　及び対照ＩｇＧ（全抗体で４００μｇ、ｈｏｌｏトランスフェリンで８０００μｇ／ｍｌ、１：３の階段希釈）の滴定を２μｇ／ｍｌのビオチン化ヒトＴｆＲと組み合わせ、１時間インキュベートした。次いで、混合物をＨＦＥコートプレートに室温で１時間加えた。プレートをＰＢＳ／０．０５％Ｔｗｅｅｎ２０で洗浄し、ストレプトアビジン（ＳｏｕｔｈｅｒｎＢｉｏｔｅｃｈ，Ｂｉｒｍｉｎｇｈａｍ）をプレートに加えて、室温で１時間インキュベートした。プレートをＰＢＳ／０．０５％Ｔｗｅｅｎ２０で洗浄し、プレートに結合したビオチン化ヒトＴｆＲを、ＴＭＢ基質（ＢｉｏＦＸ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ，Ｏｗｉｎｇｓ　Ｍｉｌｌｓ）を使って検出した。

【０３３１】

ＴｆＲへのこれらヒト化変異体の結合は、６．３μＭｈｏｌｏ－Ｔｆの存在による影響を受けなかったのに対し、ＴｆＲ上のＴｆ結合部位に結合するＴｆ競合抗体は抑制された（図５）さらに、ヒト化７Ａ４．ｖ１５、１５Ｇ１１．ｖ５及び７Ｇ７．ｖ１はＨＦＥ捕獲ｈｕＴｆＲに依然として結合でき、これは、これらの抗体が固定化ＨＦＥへのｈｕＴｆＲの結合に影響を及ぼさなかったことを示す。関連実験で、７Ａ４．ｖ１５及び１５Ｇ１１．ｖ５は、ビオチン化ＴｆＲの固定化ＨＦＥへの結合を妨害しなかった。対照的に、この相互作用はＴｆ　競合抗体及びｈｏｌｏ　Ｔｆによって妨害された（図６Ｂ）。ＨＦＥ及びＴｆはＴｆＲ上で類似エピトープを共有することがわかっている（Ｂｅｎｎｅｔ　ｅｔ　ａｌ，Ｎａｔｕｒｅ（２０００）４０３，４６－５３）。

【０３３２】

固定化１５Ｇ１１ｖ．５及び抗－ＴｆＲ^{Ｃ１２}を、ビオチン化ヒトＴｆＲ　ＥＣＤまたはヒトＴｆＲ先端ドメインを表示する一価Ｍ１３ファージへの結合について評価した。抗－ＴｆＲ^{Ｃ１２}を、トランスフェリン結合と競合するヒトＴｆＲ上の部位に結合し、ヒトＴｆＲ　ＥＣＤに対してパンニング（ｐａｎｎｉｎｇ）した合成抗体ファージライブラリ

ーから誘導した。抗体を、マキシソーププレート上でＰＢＳ中、１μｇ／ｍｌで被覆した。結合したビオチン化ヒトＴｆＲ　ＥＣＤまたはＴｆＲ－先端ドメインファージは、それぞれＨＲＰ－ストレプトアビジン（ＧＥ　ｈｅａｌｔｈ　ｃａｒｅ，ＲＰＮ　４４０１Ｖ）またはＨＲＰ－抗－Ｍ１３（ＧＥ　ｈｅａｌｔｈ　ｃａｒｅ，２７－９４２１－０１）で検出した。図２０は、１５Ｇ１１ｖ．５がヒトＴｆＲ先端ドメインに結合することを示す。１５Ｇ１１ｖ．５結合部位を、ＴｆＲリガンド結合部位から遠い部位の先端ドメインにマッピングした。

【０３３３】

実施例２：親和性操作ヒト／ＣＹＮＯ交差反応性抗ＴＦＲ抗体

上述のヒト化変異体に加えて、更なる親和性操作変異体を作成した。本明細書での例証は、１５Ｇ１１．ｖ５及び７Ａ４．ｖ１５の親和性操作である親和性変異体は標準的な技術を使用して、ＣＤＲ－Ｌ３またはＣＤＲ－Ｈ３の個別のアラニン置換を行うことによって作製した。これらの変異体を、ＥＬＩＳＡとＳＰＲでＩｇＧとしてスクリーニングし、ヒト及びｃｙｎｏ　ＴｆＲへの結合に重要な位置を確認した。Ｆａｂとしての選択した変異体の一価親和性も決定した。アラニン走査変異体ＩｇＧまたはＦａｂを２９３個の細胞で発現させ、ヒトまたはｃｙｎｏ　ＴｆＲへの結合を、ＰＢＳ中、４℃で一晩、１．８μｇ／ｍｌのヤギ抗ヒトＦｃγ（Ｊａｃｋｓｏｎ　ＩｍｍｕｎｏＲｅｓｅａｒｃｈ）で被覆したマキシソーププレートでＥＬＩＳＡによって定量した。プレートをＰＢＳ／０．０５％のＴｗｅｅｎ２０で洗浄し、ＰＢＳ（Ｔｈｅｒｍｏ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ，Ｈｕｄｓｏｎ，ＮＨ）中、ＳｕｐｅｒＢｌｏｃｋブロッキングバッファーを使用してブロックした。発現したＩｇＧを含む上清を順次１：５に希釈し、１時間プレートに加えた。精製したｈｕ１５Ｇ１１．ｖ５またはｈｕ７Ａ４．ｖ１５を標準（１ｕｇ／ｍｌで開始し１：５に希釈した）として使用した。プレートをＰＢＳ／０．０５％Ｔｗｅｅｎ２０で洗浄し、１：１０００に希釈したＨＲＰ－ヤギ－抗カッパ（Ｓｏｕｔｈｅｒｎ　Ｂｉｏｔｅｃｈ）をプレートに加えて、室温で１時間インキュベートした。プレートをＰＢＳ／０．０５％Ｔｗｅｅｎ２０で洗浄し、ＴＭＢ基質（ＢｉｏＦＸ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ，Ｏｗｉｎｇｓ　Ｍｉｌｌｓ）を使って検出した。上述のように、結合をＳＰＲによっても評価した。結果は、図７Ａ（１５Ｇ１１．ｖ５変異体）と７Ｂ（７Ａ４．ｖ１５変異体）で示す。

【０３３４】

ＣＤＲ－Ｌ１、ＣＤＲ－Ｌ２、ＣＤＲ－Ｈ１及びＣＤＲ－Ｈ２の位置での個別のアラニン置換による１５Ｇ１１．ｖ５の更なる変異体も作製、発現させて、最初にＥＬＩＳＡでヒト及びｃｙｎｏ　ＴｆＲへの結合をスクリーニングした。Ｈｕ／Ｃｙ結合ＥＬＩＳＡを、一晩、４℃でＰＢＳ中、２μｇ／ｍｌの精製ヒトまたはｃｙｎｏ　ＴｆＲで被覆したマキシソーププレートで行った。プレートをＰＢＳ／０．０５％のＴｗｅｅｎ２０で洗浄し、ＰＢＳ（Ｔｈｅｒｍｏ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ，Ｈｕｄｓｏｎ，ＮＨ）中、ＳｕｐｅｒＢｌｏｃｋ　ブロッキングバッファーを使用してブロック化した。発現したＡｌａ走査変異体ＩｇＧを含む細胞培養上清を順次１：５に希釈し、１時間ウエルに加えた。プレートをＰＢＳ／０．０５％Ｔｗｅｅｎ２０で洗浄し、１：１０００　に希釈したＨＲＰ－ヤギ抗ヒトＦｃγ（Ｊａｃｋｓｏｎ　ＩｍｍｕｎｏＲｅｓｅａｒｃｈ）をプレートに加えて、室温で１時間インキュベートした。プレートをＰＢＳ／０．０５％Ｔｗｅｅｎ２０で洗浄し、ＴＭＢ基質（ＢｉｏＦＸ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ，Ｏｗｉｎｇｓ　Ｍｉｌｌｓ）を使って検出した。

表６：ｈｕ１５Ｇ１１．ｖ５　ＩｇＧ　Ａｌａ変異体のＥＬＩＳＡ分析

			CynoTfR EC50(ng/ml)	ヒトTfR EC50 (ng/ml)
		15G11.v5	1.8	0.8
HVR-H1		G26A	6.1	1.1
		Y27A	1467.1	21.1
		T28A	0.8	0.4
		F29A	12.5	1.5
		T30A	0.9	0.4
		S31A	0.1	0.05
		Y32A	1.4	0.4
		W33A	362.5	59.6
		M34A	1.1	0.4
HVR-H2		G49A	1.1	0.3
		E50A	409.7	20.6
		I51A	0.6	0.2
		N52A	0.9	0.3
		P52aA	8.1	3.9
		T53A	0.7	0.3
		R56A	5405.4	55.1
		N58A	80.4	6.3
		Y59A	0.7	0.3
		I60A	0.7	0.3
		E61A	0.6	0.2
		K62A	0.7	0.3
		F63A	0.6	0.4
		K64A	0.6	0.3
		S65A	0.7	0.2
HVRL1		R24A	0.4	0.1
		S26A	0.6	0.2
		D27A	0.8	0.2
		N28A	0.8	0.2
		L29A	0.9	0.3
		Y30A	1.0	0.3
		S31A	0.7	0.3
		N32A	4.0	1.6
		L33A	0.1	0.05
HVR-L2		D50A	0.5	0.2

		T52A	0.3	0.2
		N53A	0.6	0.3
		L54A	0.5	0.4
		D56A	0.5	0.3

【０３３５】

次いで、選択した変異体を精製し、ヒトまたはｃｙｎｏ　ＴｆＲに対する一価親和性をＳＰＲによって評価した（表７）。

表７：選択１５Ｇ１１．ｖ５　Ｆａｂアラニン変異体の一価ＳＰＲ分析

	ヒトTfR			CynoTfR			Cy/hu
	Ka	Kd	KD	Ka	Kd	KD	比
Hu15G11.v5 Fab	6.74E+05	4.74E-03	7.03E-09	4.51E+05	1.27E-02	2.82E-08	4.0
Hu15G11.HC32A Fab	2.38E+05	1.78E-03	7.47E-09	1.77E+05	8.51E-03	4.80E-08	6.4
Hu15G11.HC34A Fab	5.64E+05	4.03E-03	7.14E-09	3.04E+05	9.90E-03	3.26E-08	4.6
Hu15G11.HC52A Fab	5.30E+05	2.36E-02	4.44E-08	4.87E+05	5.67E-02	1.17E-07	2.6
Hu15G11.HC52A Fab	5.64E+05	1.96E-02	3.46E-08	ND	ND	ND	ND
Hu15G11.HC51A Fab	4.33E+05	1.04E-02	2.39E-08	3.13E+05	3.29E-02	1.05E-07	4.4
Hu15G11.HC53A Fab	8.90E+05	1.15E-02	1.29E-08	4.84E+05	2.50E-02	5.18E-08	4.0
Hu15G11.HC54A Fab	2.06E+05	8.71E-03	4.24E-08	2.80E+05	1.69E-02	6.02E-08	1.4

【０３３６】

実施例３：二重特異性抗ヒトＴｆＲ抗体構築とインビトロ分析

ある特定の前述の抗体変異体を、ＢＡＣＥ１と特異的に結合する第２のアームをもつ二重特異性抗体として再フォーマット化した。抗ヒトＴｆＲ抗体Ｈｕ１５Ｇ１１．ｖ５，Ｈｕ１５Ｇ１１．ＬＣ９２Ａ，Ｈｕ１５Ｇ１１．ＨＣ５２Ａ及び Ｈｕ１５Ｇ１１．ＨＣ５３Ａを使用し、「ノブと穴（ｋｎｏｂ　ｉｎ　ｈｏｌｅ）］二重特異性抗体構築技術（Ｃａｒｔｅｒ，Ｐ．（２００１）Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．Ｍｅｔｈｏｄｓ　２４８，７-１５；Ｒｉｄｇｗａｙ，Ｊ．Ｂ．，Ｐｒｅｓｔａ，Ｌ．Ｇ．，ａｎｄ　Ｃａｒｔｅｒ，Ｐ．（１９９６）Ｐｒｏｔｅｉｎ　Ｅｎｇ．９，６１７-６２１；Ｍｅｒｃｈａｎｔ，Ａ．Ｍ．，Ｚｈｕ，Ｚ．，Ｙｕａｎ，Ｊ．Ｑ．，Ｇｏｄｄａｒｄ，Ａ．，Ａｄａｍｓ，Ｃ．Ｗ．，Ｐｒｅｓｔａ，Ｌ．Ｇ．，ａｎｄ　Ｃａｒｔｅｒ，Ｐ．（１９９８）Ｎａｔ．Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ．１６，６７７-６８１；Ａｔｗｅｌｌ，Ｓ．，Ｒｉｄｇｗａｙ，Ｊ．Ｂ．，Ｗｅｌｌｓ，Ｊ．Ａ．，ａｎｄ　Ｃａｒｔｅｒ，Ｐ．（１９９７）Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．２７０，２６-３５）によって二重特異性のＴｆＲ結合アームを操作した。抗ＴｆＲ（穴）及び抗ＢＡＣＥ１（ノブ）でのＦｃのノブとホール変異に加えて、全半抗体がエフェクター機能を排除したＦｃ領域（Ｎ２９７Ｇ）に変異を含み、またＨｕ１５Ｇ１１．ｖ

５及びＨｕ１５Ｇ１１．ＬＣ９２Ａはエフェクター機能を排除した追加的なＦｃ変異（Ｄ２６５Ａ）を含んだ。ノブとホール半抗体を大腸菌から別々に精製し、抗ＴｆＲホモ二量体の形成を回避するために抗ＴｆＲの１：１．１の比率で結合した。二重特異性抗体の組立ては、抗体及び２００ｍｍアルギニン（ｐＨ　８．０）に１００ｘの比率で還元型グルタチオンを含むバッファー中、少なくとも３日間、室温で還元的アニーリングによって完了した。組立ての後、二重特異性抗体を疎水的相互作用クロマトグラフィーによって精製した。組立体を液体クロマトグラフィー質量分析及びＳＤＳ－ＰＡＧＥによって確認した。精製した抗体が均一かつ単分散であることをサイズ排除多角度光散乱分光法で確認した。

【０３３７】

得られた二重特異性抗体は、１５Ｇ１１．ｖ５（抗－ＴｆＲ^{1}），ｈｕ１５Ｇ１１．Ｗ９２Ａ（ｈｕ１５Ｇ１１．ＬＣ９２Ａまたは抗－ＴｆＲ^{2}），ｈｕ１５Ｇ１１．Ｎ５２Ａ（抗－ＴｆＲ^{52A}）及びｈｕ１５Ｇ１１．Ｔ５３Ａ（抗－ＴｆＲ^{53A}）と称した。１１５Ｇ１１．ｖ５及び　１１５Ｇ１１．Ｗ９２Ａについて、ヒト及びｃｙｎｏ　ＴｆＲに対する一価親和性ならびに動態を、上のように、決定した（表９参照）。マウスＴｆＲへの結合に対して、抗ＴｆＲ^{1}及び抗ＴｆＲ^{2}は、抗ＴｆＲ^{A}及び抗ＴｆＲ^{D}と同様な一価結合親和性を有している（Ａｔｗａｌ　ｅｔ　ａｌ．，Ｓｃｉ．Ｔｒａｎｓｌ．Ｍｅｄ．３，８４ｒａ４３（２０１１）；Ｙｕ　ｅｔ　ａｌ．，Ｓｃｉ．Ｔｒａｎｓｌ．Ｍｅｄ．２５　Ｍａｙ　２０１１：　Ｖｏｌ．３，Ｉｓｓｕｅ　８４，ｐ．８４ｒａ４４を参照）。

表８：１５Ｇ１１．ｖ５（ＴｆＲ^{1}）及び１５Ｇ１１．Ｗ９２Ａ（ＬＣ９２Ａ、ＴｆＲ^{2}）の一価ＳＰＲ分析

	ヒトTfR			CynoTfR			Cyno／ヒト比
	Ka	Kd	KD	Ka	Kd	KD	
Hu15G11.v5 Fab	6.74E+05	4.74E-03	7.03E-09	4.51E+05	1.27E-02	2.82E-08	4.0
Hu15G11.W92A Bispecific	1.28E+05	3.77E-02	2.95E-07	8.36E+04	5.20E-02	6.22E-07	2.1

【０３３８】

更に、抗ＴｆＲ^{1}、抗ＴｆＲ^{2}、Ｈｕ１５Ｇ１１．Ｎ５２Ａ及びＨｕ１５Ｇ１１．Ｔ５３Ａ二重特異性抗体の結合親和性を、前述のとおり、ＳＰＲでヒト及びｃｙｎｏ　ＴｆＲに対して測定した。以下の表９に示すように、抗ＴｆＲ^{52A}及び抗ＴｆＲ^{53A}は、ヒト及びｃｙｎｏ　ＴｆＲに対し、ＴｆＲ１$^{h15G11.v5}$とＴｆＲ２^{LC92A}の間で結合親和性を有する。

表９

抗Cyno／ヒトTfR抗体(nM)		
	ヒトTfR	Cyno TfR
$TfR1^{h15G11.v5}$	10	37
$TfR2^{LC92A}$	270	810
TfR^{52A}	52	343
TfR^{53A}	24	143

【０３３９】
実施例４：ヒト赤白血病細胞株と初代骨髄単核細胞に及ぼすエフェクター含有とエフェクター不含の単一特異性抗体及び二重特異性抗体の影響
マウスの先行研究では、エフェクター機能及び／または補体結合能力を有する抗体結合マウスＴｆＲは、選択的にＴｆＲ発現網状赤血球を除去すると判定された。マウス研究で観察された除去がマウス系に特有であるかどうかを確認するため、ヒトＴｆＲに結合する抗ＴｆＲを利用して更に実験を行った。
【０３４０】
ＡＤＣＣアッセイを、エフェクター細胞として健康なヒト供与体からの末梢血単核細胞（ＰＢＭＣｓ）を使って行った。ヒトの赤白血病細胞株（ＨＥＬ、ＡＴＣＣ）及び初代骨髄単核細胞（ＡｌｌＣｅｌｌｓ，Ｉｎｃ．）を標的細胞として使用した。ＦｃγＲＩＩＩＡの残基１５８位置におけるアロタイプの相違から潜在的に生じる供与者間の変異を最小化するために、実験の第１セット（図８Ａ－Ｂ）で、供血者を、ヘテロ接合ＲｃγＲＩＩＩＡ遺伝子型（Ｆ／Ｖ１５８）を担持する供与者に限定した。第２の実験セット（図９Ａ－Ｂ）では、Ｆ／Ｖ１５８遺伝子型またはＦｃγＲＩＩＩＡ　Ｖ／Ｖ１５８遺伝子型のいずれかを担持する健康なヒト供与体からのＰＢＭＣと共に、ＨＥＬ細胞だけを標的細胞として使用した。ＮＫ細胞媒介ＡＤＣＣ活性ならびにＩｇＧ４抗体への結合能力の増加との関連性が知られているため、Ｖ／Ｖ１５８遺伝子型も本アッセイに含めた（Ｂｏｗｌｅｓ　ａｎｄ　Ｗｅｉｎｅｒ，２００５；Ｂｒｕｈｎｓ　ｅｔ　ａｌ．２００８）。細胞を計数し、製造者の指示書に従って、生存度をＶｉ－ＣＥＬＬ（登録商標）（Ｂｅｃｋｍａｎ　Ｃｏｕｌｔｅｒ；Ｆｕｌｌｅｒｔｏｎ，ＣＡ）によって決定した。
【０３４１】
ＰＢＭＣを、Ｕｎｉ－Ｓｅｐ（商標）血液分離管を使用した密度勾配遠心分離法によって単離した（Ａｃｃｕｒａｔｅ　Ｃｈｅｍｉｃａｌ　＆　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ　Ｃｏｒｐ．；Ｗｅｓｔｂｕｒｙ，ＮＹ）。５０ｍμＬのアッセイ培地（１％ＢＳＡ及び１００ユニット／ｍｌペニシリンとストレプトマイシンを含むＲＰＭＩ－１６４０）の標的細胞を、９６ウエルの丸底プレートに、$4x10^4$／ウエルで接種した。試験及び対照抗体（５０μＬ／ウエル）の階段希釈液を、標的細胞を含むプレートに加え、次いで、オプソニン化を可能にするため、５％CO_2と共に３７℃で３０分間インキュベートした。抗体の最終濃度は、合計１０のデータポイントで５倍階段希釈の後、０．００５１～１０，０００ｎｇ／ｍｌの範囲であった。インキュベーション後、１００μＬのアッセイ培地中の$1.0x10^6$ＰＢＭＣエフェクター細胞を各ウエルに加えて、２５：１の比率のエフェクター：標的細胞を得て、プレートを更に４時間インキュベートした。プレートをインキュベーションの最後で遠心分離し、細胞毒性検出キット（商標）（Ｒｏｃｈｅ　Ａｐｐｌｉｅｄ　Ｓｃｉｎｅｃｅ；Ｉｎｄｉａｎａｐｏｌｉｓ，ＩＮ）を使って上清を乳酸脱水素酵素（ＬＤＨ）活性について試験した。ＬＤＨ反応混合物を上清に加え、プレートを室温で１５分間、一定の振とうと共にインキュベートした。反応を１ＭのH_3PO_4で終了し、ＳｐｅｃｔｒａＭａｘ　Ｐｌｕｓマイクロプレートリーダーを使って吸光度を４９０ｎｍで測定した（６５０ｎｍで測定したバックグラウンドを各ウエルで減算した）。標的細胞だ

けを含むウエルの吸光度は、バックグラウンド（低対照）として機能したのに対し、Ｔｒｉｔｏｎ－Ｘ１００で溶解した標的細胞を含むウエルは最大利用可能シグナルを提供した。抗体－非依存性細胞障害活性（ＡＩＣＣ）は、抗体を加えないで、標的細胞及びエフェクター細胞を含むウエルで測定した。特定のＡＤＣＣの度合を以下の通りに計算した。

$$\%\mathrm{ADCC} = 100 \times \frac{A_{490}(\text{試料}) - A_{490}(\mathrm{AICC})}{A_{490}(\text{高対照}) - A_{490}(\text{低対照})}$$

試料希釈液のＡＤＣＣ値を抗体濃度に対してプロットし、用量－応答曲線をＳｏｆｔＭａｘ　Ｐｒｏを使用した４つのパラメータモデルに当てはめた。

【０３４２】

第１の実験セットでは、様々な抗ヒトＴｆＲ構築物のＡＤＣＣ活性を、標的細胞としてヒト赤白血病細胞株（ＨＥＬセル）または初代ヒト骨髄単核細胞のいずれかを使用して評価した。二価ＩｇＧ１エフェクター機能コンピテント抗ヒトＴｆＲ１抗体１５Ｇ１１、及び、エフェクター機能を除去するためのＤ２６５Ａ及びＮ２９７Ｇ変異を含むヒトＩｇＧ１フォーマットで抗ＢＡＣＥ１アームをもつ二重特異性形式の当該抗体を、負の対照に抗－ｇＤ　ＷＴ　ＩｇＧ１、負の対照にマウス抗ヒトＨＬＡ（クラスＩ）を使用して、ＡＤＣＣアッセイで、種々の濃度について試験した。結果を、図８Ａおよび８Ｂに示す。標的としてＨＥＬ細胞（図８Ａ）または骨髄単核細胞（図８Ｂ）のいずれかの使用で、単一特異性のエフェクター陽性抗ヒトＴｆＲ抗体１５Ｇ１１は顕著なＡＤＣＣ活性を誘導した。活性レベルは、ＨＥＬ細胞では正の対照抗ヒトＨＬＡ抗体活性と類似し、骨髄単核細胞では正の対照と比較してまだ低かった。骨髄単核細胞実験で観察されたいくらか低い活性レベルは、実験で使用した骨髄及び赤血球系統ＰＢＭＣ細胞のほんの一部の不均一混合物しか高レベルのＴｆＲを発現しないためであるが、ＨＥＬ細胞は、クローン細胞集団全体で定常的にＴｆＲを発現する。それとは際立って対照的に、二重特異性エフェクターを欠く抗ヒトＴｆＲ／ＢＡＣＥ１抗体は、負の対照と同様に、ＨＥＬまたは骨髄単核細胞のいずれにも何のＡＤＣＣ活性も示さなかった。

【０３４３】

第２の実験セットでは、当該アッセイ系で抗体アイソタイプの切り替えの影響を評価した。ＡＤＣＣアッセイ手順は上述と同一であったが、例外は、全ての標的細胞がＨＥＬ細胞であったこと、及びエフェクター細胞はヘテロ接合ＦｃγＡＲＩＩＩａ－Ｖ／Ｆ１５８遺伝子型またはホモ接合性ＦｃγＡＲＩＩＩａ－Ｖ／Ｖ１５８遺伝子型のいずれかを担持する健康なヒト供与体からのからのＰＢＭＣであった。試験した全抗ヒトＴｆＲは、３つの異なるＩｇ骨格（野生型ヒトＩｇＧ１、Ｎ２９７Ｇ変異をもつＩｇＧ１、及びヒトＩｇＧ４）に対し抗ｇＤをもつ二重特異性であった。ヒトＩｇＧ４骨格をもつ抗Ａｂｅｔａ抗体も試験し、マウス抗ヒトＨＬＡ（クラスＩ）を正の対照として供給した。結果を、図９Ａおよび９Ｂに示す。エフェクター細胞活性化とＶ／Ｖ１５８遺伝子型（Ｂｏｗｌｅｓ　ａｎｄ　Ｗｅｉｎｅｒ　２００５）の間の既知の関係に基づいて予測されたように、ＡＤＣＣ活性は、Ｖ／Ｖ１５８ドナー（標的細胞の約２５％が影響を受けた）に比較してＶ／Ｖ１５８ドナーＰＢＭＣ（標的細胞の約４５％が影響を受けた）によってより強く誘導された（図９Ａ～９Ｂ）。野生型ＩｇＧ１をもつ抗ＴｆＲ／ｇＤは、ＨＥＬ細胞で強力なＡＤＣＣを誘導した一方、エフェクターを欠くＩｇＧ１をもつ抗ＴｆＲ／ｇＤはＨＥＬ細胞に全くＡＤＣＣの提示がなく、第１の実験セットの結果を再現した。特に、１００ｎｇ／ｍｌ以上の濃度で、ＩｇＧ４アイソタイプの抗ＴｆＲ／ｇＤが軽度なＡＤＣＣ活性を示した。当該活性が抗Ａｂｅｔａ　ＩｇＧ４結果で観察されなかったのは、ＴｆＲ結合がＡＤＣＣ活性に必要であることを示した。この知見は、ＩｇＧ４が最小だが、測定可能なエフェクター機能をもつとした以前のレポートと相関する（Ａｄｏｌｆｆｓｏｎ　ｅｔ　ａｌ．，Ｊ．Ｎｅｕｒｏｓｃｉ．３２（２８）：９６７７－９６８９（２０１２）；ｖａｎ

ｄｅｒ Ｚｅｅ ｅｔ ａｌ．Ｃｌｉｎ Ｅｘｐ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．６４： ４１５－４２２（１９８６））；Ｔａｏ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｅｘｐ．Ｍｅｄ．１７３：１０２５－１０２８（１９９１））。

【０３４４】

実施例５：インビボでの二重特異性抗ヒトＴｆＲ／ＢＡＣＥ１二重特異性抗体の評価

Ａ．薬物動態、薬力学及び安全試験

インビボで二重特異性抗ヒトＴｆＲ抗体の薬剤濃度、薬力学的影響、及び安全性を評価するために、カニクイザル（Ｍａｃａｃａ ｆａｓｃｉｃｕｌａｒｉｓ）に、先の実施例（抗ＴｆＲ^{1}／ＢＡＣＥ１）で使用した同じ抗ＢＡＣＥ１アームを対合した抗ＴｆＲ抗体クローン１５Ｇ１１（抗ＴｆＲ^{1}／ＢＡＣＥ１）、または先の実施例で使用した同じ抗ＢＡＣＥ１アームを対合したクローン１５Ｇ１１．ＬＣ９２Ａ（抗ＴｆＲ^{2}／ＢＡＣＥ１）を使用する二重特異性抗体を投与した。これらの二重特異性抗体は、前述のとおり、エフェクター機能を排除するＮ２９７ＧまたはＤ２６５Ａ及びＮ２９７Ｇ変異を有したヒトＩｇＧ１の形式であった。対照として、ヒトＩｇＧ１の抗ｇＤ分子を使用した。本試験は、これらの抗ＴｆＲ抗体の交差反応性が非ヒト霊長類及びヒトに限定されるため非ヒト霊長類で行った加えて、試験は、脳脊髄液（ＣＳＦ）と血漿区画の間の薬剤輸送の機構がヒトと霊長類の間で類似する可能性があることを示した（Ｐｏｐｌａｃｋ ｅｔ ａｌ，１９７７）。抗体は、留置大槽カテーテルを用いて、覚醒カニクイザルに３０ｍｇ／ｋｇの用量で伏在静脈に、単回静脈内（ＩＶ）ボーラス注入法で投与した。投与後６０日までの様々な時点で、血漿、血清、及び（ＣＳＦ）を採取した。試料分析は、血液学（全血）、臨床化学（血清）、抗体濃度（血清とＣＳＦ）、及び抗体に対する応じた薬力学的応答（血漿とＣＳＦ）を含んだ。詳細な試料採スキームに関しては図１０を参照されたい。

【０３４５】

カニクイザル血清及びＣＳＦ中の投与した抗体の濃度を、抗体被覆を吸着したヒツジ抗ヒトＩｇＧサルを使用したＥＬＩＳＡで測定し、次いで、１：１００の希釈で開始した血清試料を加え、検出用に吸着したサル西洋ワサビペルオキシダーゼと複合体化したヤギ抗ヒトＩｇＧ抗体を添加して終了させた。アッセイは、０．７８～５０ｎｇ／ｍｌの範囲の検量線を得て、検出限界は０．０８μｇ／ｍＬであった。検出限界以下の結果は報告可能未満（ＬＴＲ）として報告した。

【０３４６】

図１１Ａ～Ｂは、抗ＴｆＲ１／ＢＡＣＥ１及び抗ＴｆＲ２／ＢＡＣＥ１の薬物動態分析の結果を示す。抗ｇＤに薬物動態プロファイルは、典型的なヒトＩｇＧ１抗体に関して予想通り３．９８ｍｌ／日／ｋｇの平均クリアランスであった。両方の抗ＴｆＲ／ＢＡＣＥ１抗体が抗ｇＤより速く除去されたのは末梢の標的媒介性クリアランスに起因している可能性があった。抗ＴｆＲ１／ＢＡＣＥ１は最も速いクリアランスを有し、それがＴｆＲに最も高い結合親和性と有していることと一致したが、抗ＴｆＲ２／ＢＡＣＥ１は、抗ＴｆＲ１／ＢＡＣＥ１と比較して改善された薬物動態プロファイル（すなわち、血清中の長期暴露）を示し、ＴｆＲに対する親和性の低下に起因する可能性があった。抗ＴｆＲ１／ＢＡＣＥ１と抗ＴｆＲ２／ＢＡＣＥ１のクリアランスはそれぞれ１８．９ｍｌ／日／ｋｇと８．１４ｍｌ／日／ｋｇであった。全抗体が血清濃度のおよそ１０００分の１でＣＳＦ中に検出された。しかし、高い変動性があり、全体では、分子全体でＣＳＦ抗体濃度に検知可能な相違はなかった。

表１０：カニクイザル（ｎ＝５）における３０ｍｇ／ｋｇでの単回ＩＶボーラス投与処方後の全試験抗体の平均(±ＳＤ)ＰＫパラメータ推定値

抗体	AUC_{all} (day*μg/mL)	AUC_{inf} (day*μg/mL)	C_{max} (μg/mL)	CL(mL/day/kg)	V_{ss} (mL/kg)
抗－gD	7640 ± 1790	7930 ± 1910	912 ± 141	3.98 ± 1.05	51.3 ± 10.2
抗－TfR[1]/BACE1	1610 ± 240	1610 ± 237	809 ± 132	18.9 ± 2.54	41.0 ± 8.18
抗－TfR[2]/BACE1	3750 ± 528	3750 ± 530	850 ± 69.2	8.14 ± 1.21	41.2 ± 6.06

SD＝標準偏差；IV =静脈；AUC_{all}＝時間０から最終測定可能濃度の時間までの濃度－時間曲線の下の領域；AUC_{inf} =無限まで外挿した濃度－時間曲線の下の領域；C_{max}＝観察された最大血清中濃度；CL＝クリアランス；V_{ss}＝定常状態における分散体積；Min＝最小；Max＝最大.

【０３４７】

抗ＴｆＲ／ＢＡＣＥ１投与に応じた薬力学的影響をみるために、カニクイザル血漿及びＣＳＦ中の$Abeta_{1-40}$及びｓＡＰＰαとｓＡＰＰβレベルを測定した。$Abeta_{1-40}$を、抗$Abeta_{1-40}$特異的ポリクローナル抗体コートを使用してＥＬＩＳＡで測定し、次いで、試料を加え、検出用の西洋ワサビペルオキシダーゼと複合体化したマウス抗ヒト$Abeta_{1-40}$モノクローナル抗体を加えて終了させた。アッセイは、血漿で６０ｐｇ／ｍｌの検出限界、ＣＳＦで１４０ｐｇ／ｍｌの検出限界を有する。検出限界以下の結果は報告可能未満（ＬＴＲ）として報告した。ｓＡＰＰα及びｓＡＰＰβのＣＳＦ中濃度をｓＡＰＰα／ｓＡＰＰβマルチスポットアッセイを使用して測定した（ＭｅｓｏＳｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ（ＭＳＤ））。ＣＳＦを氷上で解凍した後、ＴＢＳ－Ｔ（１０ｍＭのトリスバッファー、ｐＨ　８．０、１５０ｍＭのＮａＣｌ、０．１％Ｔｗｅｅｎ－２０）中の１％ＢＳＡに１：１０で希釈した。アッセイを製造者の指示書に従って行った。アッセイは、ｓＡＰＰαが０．０５　ｎｇ／ｍｌ、ｓＡＰＰβが０．０３　ｎｇ／ｍＬの下限の定量化値を有した。

【０３４８】

図１２Ａ～Ｅは、抗体の薬力学的挙動を示す。末梢では、血漿$Abeta_{1-40}$レベルは抗ｇＤ投与後に不変のままだったが、抗ＴｆＲ／ＢＡＣＥ１投与の後、過渡的に減少した。両方の変異体が血漿$Abeta_{1-40}$レベルを低減し、投与後１日で最大抑制率が５０％に達した。血漿$Abeta_{1-40}$レベルは徐々に回復し、抗TfR^1／ＢＡＣＥ１を投与した動物が投与後約１４日でベースラインの$Abeta_{1-40}$レベルに戻った。$Abeta_{1-40}$レベルは、抗TfR^2／ＢＡＣＥ１で処置した動物で投与後２１～３０日でベースラインレベルに戻った。両方の抗ＴｆＲ／ＢＡＣＥ１抗体がＣＳＦ　$Abeta_{1-40}$レベルを低減し、抗ｇＤ投与動物では変化が観察されなかった。抗TfR^1／ＢＡＣＥ１投与は、抗TfR^2／ＢＡＣＥ１（ベースラインの２０％の平均的最大抑制率）よりＣＳＦ　$Abeta_{1-40}$レベルで顕著な減少（ベースラインの５０％の平均的最大抑制率）をもたらした。ｓＡＰＰβ産生は、抗ｇＤを受けた動物ではなく抗反ＴｆＲ／ＢＡＣＥ１処理動物で抑制された。Ａβ４０Ａの結果も同様、抗TfR^1／ＢＡＣＥ１は抗TfR^2／ＢＡＣＥ１よりｓＡＰＰβ産生に対し強い抑制効果を有した。ｓＡＰＰα産生は、抗TfR^1／ＢＡＣＥ１と抗TfR^2／ＢＡＣＥ１の両方によるＢＡＣＥ１抑制の間に刺激され、応答が、ｓＡＰＰβと$Abeta_{1-40}$について観察された

抑制レベルと逆相関性を示した。ＳＡＰＰα及びｓＡＰＰβはアミロイド前駆体蛋白質（ＡＰＰ）の一次処理産物であり、それらのレベルは高い相関性がある。ｓＡＰＰβ／ｓＡＰＰαの比率は、基礎的ＡＰＰ発現の潜在的変化または研究過程にわたるＣＳＦ収集及び処理での潜在的な分析前差異への結果を正規化する。抗ＴｆＲ^{1}／ＢＡＣＥ１　によるＣＳＦ　ｓＡＰＰβ／ｓＡＰＰαの比率は抗ＴｆＲ^{2}／ＢＡＣＥ１より強いＰＤ効果を示した。従って、これらの結果は、抗ＴｆＲ／ＢＡＣＥ１抗体による標的（すなわちＢＡＣＥ１）攻撃を支持する。

【０３４９】

全体として、これらの結果は、ヒトＴｆＲに対する親和性をもつ二重特異性抗ＴｆＲ／ＢＡＣＥ１抗体は、抗ＴｆＲ^{1}／ＢＡＣＥ１と抗ＴｆＲ^{2}／ＢＡＣＥ１の間で薬物動態／薬力学バランスを有している可能性がある。

【０３５０】

安全性シグナルは本研究で観察されなかった。投与６０日間後に、任意の３０ｍｇ／ｋｇの二重特異性抗体を処方したサルのあらゆる血液学または臨床化学パラメータに明白な影響はなかった。重要なことに、網状赤血球レベルは、抗ＴｆＲ^{1}／ＢＡＣＥ１または抗ＴｆＲ^{2}／ＢＡＣＥ１のいずれかの処置による影響も受けなかった（図１３）のは、これらの抗体はエフェクター－機能障害性であり、また高ＴｆＲレベルを有した初期網状赤血球の全体水準が通常の霊長類で非常に低いことから、予想通りであった（実施例４を参照）。

【０３５１】

実施例６：インビボでの二重特異性抗ヒトＴｆＲ／ＢＡＣＥ１二重特異性抗体の評価

ＣＳＦにおける抗体薬力学と脳における薬物動態の間の関連性を調査するために、前の実施例のように、カニクイザル（Ｍａｃａｃａ　ｆａｓｃｉｃｕｌａｒｉｓ）に二重特異性抗体、抗ＴｆＲ^{1}／ＢＡＣＥ１または抗ＴｆＲ^{2}／ＢＡＣＥ１を投与した。これらの二重特異性抗体は、エフェクター機能を排除するＤ２６５Ａ及びＮ２９７Ｇ変異を有したヒトＩｇＧ１の形式であった。対照として、ヒトＩｇＧ１の抗ｇＤ分子を使用した。比較のために、二重特異性抗体に使用される同じクローンの二価抗ＢＡＣＥ１抗体も投与した。抗体は、留置大槽カテーテルを用いて、覚醒カニクイザルに３０ｍｇ／ｋｇの用量で伏在静脈に、単回静脈内（ＩＶ）ボーラス注入法で投与した。ベースラインＣＳＦ試料を処方２４時間と４８時間前に収集し、別のＣＳＦ試料を投与２４時間後に収集した（図１４に図式的に示す）。投与２４時間後のＣＳＦ収集の後、動物に食塩水を潅流し、脳を抗体濃度の分析のために収集した。Ｍｉｎｉ，ＥＤＴＡ－フリープロテアーゼインヒビターカクテル錠（Ｒｏｃｈｅ　Ｄｉａｇｎｏｓｔｉｃｓ）を含むＰＢＳ中、１％　ＮＰ－４０（Ｃａｌ－Ｂｉｏｃｈｅｍ）で異なる脳領域を均質化した。均質化脳試料を、４℃で１時間回転した後に１４，０００ｒｐｍで２０分間遠心分離した。上清は、前の実施例で記載するＥＬＩＳＡ法を用いて、脳抗体測定のために単離した。血液も収集して末梢性曝露及び薬力学的応答を確認し、実施例５での観察と類似した。

【０３５２】

ＣＳＦで評価した抗ＴｆＲ^{1}／ＢＡＣＥ１及び抗ＴｆＲ^{2}／ＢＡＣＥ１の薬力学的影響も前の実施例の観察と類似した。図１５は、ＣＳＦ　ｓＡＰＰβ／ｓＡＰＰαの比率が抗ＴｆＲ^{1}／ＢＡＣＥ１を投与した後に強く減少したことを示す。抗ＴｆＲ^{2}／ＢＡＣＥ１は、本試験で投与の２４時間後に明らかな減少を示さなかった。抗ＢＡＣＥ１も影響を示さなかった。抗体の脳の濃度分析から、アッセイでの検出（平均約６７０ｐＭ）を超えたレベル）では、対照ＩｇＧと抗ＢＡＣＥ１抗体は両方とも脳への取込みが制限されることがわかった。抗ＴｆＲ^{2}／ＢＡＣＥ１は対照ＩｇＧ（平均約２ｎｍ）に対して脳の取込みが３倍改善し、抗ＴｆＲ^{1}／ＢＡＣＥ１は対照ＩｇＧ（平均約１０ｎＭ）より１５倍大きい最良の脳取込みを有した。異なる抗体の脳抗体濃度は本試験でＣＳＦに見られた薬力学的応答と相関し、抗ＴｆＲ^{1}／ＢＡＣＥ１が最良の脳取込みと最も強い薬力学的影響を有し、ＴｆＲ^{2}／ＢＡＣＥ１　が少ない脳取込みとより適度の薬力学的影響を有した。

【０３５３】

これらの結果は、ＴｆＲ結合二重特異性抗体は非ヒト霊長類の脳での取り込みを改善することを示す以前の結果を拡張する。霊長類では、マウスの場合の同様、脳取込みとＴｆＲ介在クリアランスを最もよく均衡化させる最適なＴｆＲ親和性がありそうである。実施例では、より高い親和性抗ＴｆＲ^{1}／ＢＡＣＥ１が良好な脳取込みを示し、末梢標的仲介クリアランスに影響される。親和性が低下したＴｆＲ^{2}／ＢＡＣＥ１は、クリアランス特性を改善するが、（ＵＳ２０１２／０１７１１２０にある最低親和性抗ＴｆＲ抗体　ＴｆＲ^{E}は、親和性が低すぎて、例えば、ＴｆＲが移行過程を開始するときに抗体がＴｆＲと会合したままであるような抗体とＴｆＲに間に十分な相互作用を可能としない親和性閾値を超える多少の親和性はパスしている、同様な方法ではほとんどが）ＴｆＲによって効率的に輸送できないような低いＴｆＲ結合性を有しているように思える。この実験の結果から、ＴｆＲに対して親和性を有する抗ヒト／ｃｙｎｏ　ＴｆＲ／ＢＡＣＥ１二重特異性抗体は、ＴｆＲ^{1}とＴｆＲ^{2}　の間では、抗ＴｆＲ^{1}／ＢＡＣＥ１または抗ＴｆＲ^{2}／ＢＡＣＥ１のいずれかに対して取込み及びクリアランスを改善することが予測される。

【０３５４】

実施例７：二重特異性トランスフェリン受容体抗体の文脈における更なるエフェクターを欠く変異の作製

Ｆｃ領域における他の変異（Ｎ２９７ＧとＤ２６５Ａへのエフェクター付加作用を排除する）を、ＴｆＲを発現する網状赤血球の欠失を減少または予防する能力について試験した。具体的には、参照することにより本書に援用される米国特許出願公開第２０１２／０２５１５３１号に記載されたＦｃ変異Ｌ２３４Ａ、Ｌ２３５Ａ及びＰ３２９Ｇ（「ＬＡＬＡＰＧ」）、は、抗ＴｆＲ^{D}／ＢＡＣＥ１抗体に組み込まれる（国際出願公開第ＷＯ　２０１３／１７７０６２号に記載されており、参照することにより全体が本書に援用される）。

【０３５５】

マウスでの単回抗体投与後の薬物動態分析及び網赤血球数を以下の通りに行った。野生型雌のＣ５７Ｂ／６匹のマウス６－８週齢を全試験で使用した。動物の管理は機関ガイドラインに従った。ＬＡＬＡＰＧ変異をもつ抗ｇＤ抗体（マウスＩｇＧ２ａ）、ＬＡＬＡＰＧ変異をもつ抗ＴｆＲ^{D}／ＢＡＣＥ１抗体（ラット／マウスキメラ）のいずれかを、マウスに、一回５０ｍｇ／ｋｇ用量で静脈投与した。全注入量は２５０μＬを超えなかった。また抗体は必要なときにＤ－ＰＢＳに希釈した。２４時間後に、全血をＥＤＴＡマイクロティナ管（ＢＤ　Ｄｉａｇｎｏｓｔｉｃｓ）に潅注する前に収集し、室温で３０分間静置し、１０分間５０００ｘ　ｇで遠沈させた。血漿の上層を抗体測定用の新しい管に移した。

【０３５６】

マウス血漿中の全抗体濃度を、抗マウスＩｇＧ２ａ（アロタイプａ）／抗マウスＩｇＧ２ａ（アロタイプａ）ＥＬＩＳＡを使用して測定した。ＮＵＮＣ　３８４－ウエルマキシソープイムノプレート（Ｎｅｐｔｕｎｅ，ＮＪ）を４℃で一晩、マウス抗マウスＩｇＧ２ａアロタイプＡ、アロタイプＡ特異的抗体（ＢＤ／Ｐｈａｒｍｉｇｅｎ　Ｓａｎ　Ｊｏｓｅ，ＣＡ）で被覆した。プレートを、ＰＢＳ，０．５％　ＢＳＡを用いて、２５℃で１時間ブロックした。各抗体（抗ｇＤと抗ＴｆＲ／ＢＡＣＥｌ二重特異性変異体）を標準として使用し、それぞれの抗体濃度を定量化した。プレートを、マイクロプレートウォッシャー（Ｂｉｏ－Ｔｅｋ　Ｉｎｓｔｒｕｍｅｎｔｓ，Ｉｎｃ．，Ｗｉｎｏｏｓｋｉ，ＶＴ）を使用してＰＢＳ、０．０５％Ｔｗｅｅｎ－２０で洗浄し、０．５％　ＢＳＡ、０．３５Ｍ　ＮａＣｌ、０．２５％　ＣＨＡＰＳ、５　ｍＭ　ＥＤＴＡ、０．２％　ＢｇＧ、０．０５％　Ｔｗｅｅｎ－２０及びＰｒｏｃｌｉｎ（登録商標）（Ｓｉｇｍａ－Ａｌｄｒｉｃｈ）を含むＰＢＳに希釈した標準及び試料を２５℃で２時間加えた。結合抗体をビオチン複合体化マウス抗マウスＩｇＧ２ａアロタイプＡ、アロタイプＡ特異的抗体（ＢＤ／Ｐｈａｒｍｉｇｅｎ　Ｓａｎ　Ｊｏｓｅ、ＣＡ）で検出した。結合ビオチン複合体化抗体は、西洋ワサビペルオキシダーゼ複合体化ストレプトアビジン（ＧＥ　Ｈｅｌａｔｈｃａｒｅ　Ｌｉｆｅ　Ｓｃｉｅｎｃｅｓ，Ｐｉｔｔｓｂｕｒｇｈ，ＰＡ）で検出した。試料を、３

，３’，５，５’－テトラメチルベンジジン（ＴＭＢ）（ＫＰＬ，Ｉｎｃ．，Ｇａｉｔｈｅｒｓｂｕｒｇ，ＭＤ）を使用して展開し、吸光度をマルチスキャンアセントリーダー（Ｔｈｅｒｍｏ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ，Ｈｕｄｓｏｎ，ＮＨ）上、４５０ｎｍで測定した。濃度は、４パラメータ非線形回帰プログラムを使用した検量線から決定した。アッセイは、血漿で７８．１３ｎｇ／ｍｌの定量下限（ＬＬＯＱ）値の有した。実験群間の差異の統計分析は、両側独立ｔ検定を使用して行った。

【０３５７】

Ｆｃ　ＬＡＬＡＰＧ変異を含む抗ＴｆＲ^{D}／ＢＡＣＥ１抗体の投与時に、マウスは、完全なエフェクター機能をもつ抗体の使用で、以前に観察されたような臨床症状を示さなかった。Ｃｏｕｃｈ　ｅｔ　ａｌ．，Ｓｃｉ．Ｔｒａｎｓ．Ｍｅｄ．５：１８３ｒａ５７（２０１３）を参照されたい。図１７に薬物動態分析の結果を示す。

【０３５８】

その上、未熟な総網赤血球数を、製造者の指示書に従ってＳｙｓｍｅｘ　ＸＴ２０００ｉＶ（Ｓｙｓｍｅｘ，Ｋｏｂｅ，Ｊａｐａｎ）を使用して決定した。投与の２４時間後、図１８でわかるように、試験した任意の抗体に関して、未熟な網状赤血球画分または総網赤血球数で差異が観察されなかった。これらの結果は、ＬＡＬＡＰＧ変異が抗体エフェクター機能を排除するだけでなく補体結合を抑制し、またエフェクターを欠く抗体フレームワークによる補体仲介網状赤血球クリアランスも見られることを示唆する（Ｃｏｕｃｈ　ｅｔ　ａｌ．２０１３）。このことは、ヒトＩｇＧ１上へのＬａＬａ変異の取込みが補体結合を制限できるとした別の報告と一致する（Ｈｅｓｓｅｌ　ｅｔ　ａｌ．Ｎａｔｕｒｅ　４４９－１０１－１０４（２００７））。

【０３５９】

実施例８：抗ＢＡＣＥ１抗体の作製

ＡＣＥ１と特異的に結合する完全ヒト抗体を、酵母に基づくヒト抗体ディスプレイライブラリーを使用して作製し、ヒトＢＡＣＥ１細胞外ドメイン（ＢＡＣＥ１－ＥＣＤ）、配列番号１７９のアミノ酸１－４５７に対して選択した。

【０３６０】

以前に記載されているように８つのナイーブヒト合成酵母ライブラリーが各々約10^{9}の多様性に増殖した（例えば、Ｘｕ　ｅｔ　ａｌ，２０１３，Ｐｒｏｔｅｉｎ　Ｅｎｇ．Ｄｅｓ．Ｓｅｌ．，２６：　６６３－７０；国際公開第２００９０３６３７９号；国際公開第２０１０１０５２５６号；国際公開第２０１２００９５６８号を参照　）。最初の２ラウンドの選別では、Ｍｉｌｔｅｎｙｉ　ＭＡＣｓシステムを利用した磁気ビーズソーティング法を、記載の通りに行った（例えば、Ｓｉｅｇｅｌ　ｅｔ　ａｌ．，２００４，Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．Ｍｅｔｈｏｄｓ，２８６：　１４１－５３を参照）。簡潔には、酵母細胞（約10^{10}細胞／ライブラリー）をＦＡＣＳ洗浄バッファー（リン酸緩衝生理食塩水（ＰＢＳ）／０．１％ウシ血清アルブミン（ＢＳＡ））中、室温で１５分間、２００ｎｍのビオチン化ＢＡＣＥ１－ＥＣＤとインキュベートした。５０ｍｌの氷冷洗浄バッファーで１回洗浄した後、細胞ペレットを４０ｍｌの洗浄バッファーに再懸濁し、Ｓｔｒｅｐｔａｖｉｄｉｎ　ＭｉｃｒｏＢｅａｄｓ（５００μｌ）を酵母に加えて、４℃で１５分間インキュベートし、酵母をペレット化し、５ｍｌの洗浄バッファーに再懸濁し、Ｍｉｌｔｅｎｙｉ　ＬＳ　カラムの上に供給した。５ｍｌ供給した後、カラムを３ｍｌのＦＡＣＳ洗浄バッファーで３回洗浄した。次いで、カラムを磁場から除去し、酵母を５ｍｌの増殖媒体で溶出した後、一晩増殖した。次ラウンドのソーティングは、フローサイトメトリーを使用して行った。およそ1×10^{8}個の酵母をペレット化し、洗浄バッファーで３回洗浄し、平衡状態下、ビオチン化ＢＡＣＥ１－ＥＣＤ（１００から１ｎＭへ）濃度を下げながら室温でインキュベートした。次いで、酵母を２回洗浄し、ＬＣ－ＦＩＴＣ（１：１００に希釈）で染色し、ＳＡ－６３３（１：５００に希釈）またはＥＡ－ＰＥ（１：５０に希釈）の第２試薬のいずれかで４℃、１５分間染色した。氷冷洗浄で２回洗浄した後、細胞ペレットを０．４ｍｌの洗浄バッファーに再懸濁し、ストレーナーキャップ付ソートチューブに移した。ソーティングは、ＦＡＣＳ　ＡＲＩＡソーター（ＢＤ　Ｂｉｏｓｃｉｅ

ｎｃｅｓ）を使用して行い、とソートゲートを決定し、結合子を選別した。最終ラウンドのソーティング後、酵母を平板培地に置き、個別のコロニーを特性化用に集めた。

【０３６１】

選別した抗体の最適化は、以下で各々記載したように軽鎖及び重鎖多様化の両方を最適化することによって行った。

【０３６２】

軽鎖多様化：重鎖プラスミドを抽出し、軽鎖ライブラリーに形質転換し、およそ$1x10^6$の多様性を得た。１ラウンドのＭＡＣＳソーティング及び２ラウンドのＦＡＣＳソーティングで、より高い親和性を選別するためにビオチン化ＢＡＣＥ１－ＥＣＤ滴定を使用した上記の通りに選別を実行した。

【０３６３】

重鎖多様化：$1x10^8$の多様性をもつＣＤＲＨ１とＣＤＲＨ２で予め作製したライブラリーにＣＤＲＨ３を組換えて、選別を上記の通りに実行した。異なる時間量に対し、親のＦａｂまたは非ビオチン化抗原との抗原抗体酵母複合体をインキュベーションによる親和性圧力を適用し、最も高い親和性抗体を選別した。更なる多様性サイクルは、重鎖及び軽鎖のＥｒｒｏｒ－ｐｒｏｎｅ　ＰＣＲに基づく変異誘発を利用した。選別は、全３ラウンドのＦＡＣＳソーティングを使用した前のサイクルと同様に、Ｆａｂ圧力に対して時間を増やして行った。

【０３６４】

配列決定及び更なる特性化のため、７８の抗体を選別プロセスから選択した。７８の抗体の重鎖及び軽鎖ＨＶＲを図２１と２２に示す。重鎖及び軽鎖可変領域配列をそれぞれ図２３と２４に示す。

【０３６５】

抗体を２つの別々のエピトープビンであると決定した。各抗体のエピトープビン（ビン「２」または「３」のいずれか）を、図２１～２４に示す。

【０３６６】

実施例９：抗ＢＡＣＥ１抗体の特徴づけ

実施例８に記載した抗ＢＡＣＥ１抗体を更に以下に記載したアッセイを使用して特徴づけた。

【０３６７】

Ａ．Ｏｃｔｅｔ（登録商標）システムを使用した結合動態

ヒト及びマウスＢＡＣＥ１　ＥＣＤに関して実施例１で選別した７８の抗ＢＡＣＥ１抗体に対する結合親和性を、次の通りＯｃｔｅｔ（登録商標）システムを使用して決定した。アッセイバッファー中の６０秒間ベースラインに従って抗ヒトキャプチャー（ＡＨＣ）センサー（チップ）に抗ＢＡＣＥ１抗体を負荷させた。次いで、チップを２００ｎＭのヒトＢＡＣＥ１　ＥＣＤ（ＣＨＯ細胞で産生またはＲ＆Ｄ　Ｓｙｓｔｅｍｓから購入）またはマウスＢＡＣＥ１　ＥＣＤ（ＣＨＯ細胞で産生；配列番号３８９）に曝露させた。チップをオフレート測定ではオフレートに応じて５分間、３０分間または１２０分間アッセイバッファーに移した。アッセイバッファーは、ＰＢＳ＋０．１％のＢＳＡ，ｐＨ　７．５または　ＰＢＳ＋０．１％のＢＳＡ，ｐＨ　５．０のどちらかであった。速度論を、１：１結合モデルを使用して解析した。

【０３６８】

この実験の結果を図２５中に示す。K_D前の「＜」記号を伴う測定値はアッセイランで測定可能オフレート限界を下回る。

【０３６９】

Ｂ．表面プラズモン共鳴（ＢＩＡｃｏｒｅ（登録商標））を使用した結合速度論

ある特定の抗ＢＡＣＥ１　ＩｇＧの結合親和性をＢＩＡｃｏｒｅ（商標）－Ｔ１００を使用した表面プラズモン共鳴（ＳＲＰ）によって測定した。抗ＢＡＣＥ１ヒトＩｇＧを、Ｍ５バイオセンサーチップ上に被覆したマウス抗ヒトＦｃ抗体（ＧＥ　Ｈｅａｌｔｈｃａｒｅ，ｃａｔ＃　ＢＲ－１００８－３９）によって捕捉し、およそ１５０のレスポンスユ

ニット（ＲＵ）を得た。動態測定では、ヒトＢＡＣＥ１（Ｒ＆Ｄ　Ｓｙｓｔｅｍｓ）の２倍階段希釈液（１２５ｎＭ～０ｎＭ）を、ＨＢＳ－Ｐバッファー（０．０１　Ｍ　ＨＥＰＥＳ　ｐＨ　７．４，０．１５　Ｍ　ＮａＣｌ，０．０５％　ｖ／ｖ　Ｓｕｒｆａｃｔａｎｔ　Ｐ２０，ＧＥ　Ｈｅａｌｔｈｃａｒｅ）に２５°Ｃ、流速３０μｌ／分で注入した。会合速度（k_{on}）と解離速度（k_{off}）は、単純一対一ラングミュア結合モデル（ＢＩＡｃｏｒｅ　Ｅｖａｌｕａｔｉｏｎ　Ｓｏｆｔｗａｒｅ　ｖｅｒｓｉｏｎ　３．２）を使用して計算した。平衡解離定数（K_D）は、k_{off}／k_{on}比として計算した。

【０３７０】

この実験の結果を図２５中に示す。

【０３７１】

Ｃ．エピトープビニング

７８の抗体のエピトープビニングをＯｃｔｅｔ（登録商標）システムを使用して行った。簡潔には、アッセイバッファー、ｐＨ　７．５で６０秒間ベースラインに従って第１抗体をＡＨＣチップ上に負荷させた。次いで、抗原結合を可能にするため、チップを２００ｎＭヒトＢＡＣＥ１に１８０秒間曝露する。チップを、アッセイバッファー中、５０μｇ／ｍｌ第２の抗体を含むウエルに９０秒間移した。仮に第２の抗体が明白な結合を示せば、非競合（すなわち、第１抗体と異なるエピトープビン）であるとみなせる。仮に第二抗体が明白な結合を示さなければ、競合（すなわち、第１抗体と同じエピトープビン）であるとみなせる。結合決定は、第１抗体の存在下でＢＡＣＥ１に結合する第２抗体と、それを遮断する第１抗体を比較することによって結合決定を行った。第１の抗体を選択するため、上記のアッセイと類似したアッセイを行い、相互に排他的な結合を示す抗体を選別する。

【０３７２】

各抗体のエピトープビン図２１～２４に示す。７８の抗体を２つのエピトープビンに分類した。

【０３７３】

Ｄ．インビトロ阻害アッセイ

更に、ＢＡＣＥ基質上のＢＡＣＥ１蛋白質分解活性を調節する抗体の能力をＨＴＲＦアッセイを使用してインビトロで評価した。

【０３７４】

最初のアッセイで、ある特定の抗ＢＡＣＥ１抗体をおよそ０．６μＭまで反応バッファー（５０　ｍＭ酢酸ナトリウムｐＨ　４．４、０．１％　ＣＨＡＰＳ）に希釈した。ＢＡＣＥ１　ＥＣＤを０．３μＭまで反応バッファーに希釈した。３μＬのＢＡＣＥ１と３μＬの抗ＢＡＣＥ１抗体を３８４ウエルプレートのウエル内で結合し、３０分間インキュベートした。３μＬのＦＲＥＴ短基質Ｍｃａ－ＳＥＶＮＬＤＡＥＦＲＫ（Ｄｎｐ）ＲＲ－NH_2（Ｍｃａ：（７－メトキシクマリン－４－イル）アセチル、Ｄｎｐ：２（４－ジニトロフェニル）；Ｒ＆Ｄ　Ｓｙｓｔｅｍｓ）（配列番号１８４）を加え、パルススピンで混合した。開裂基質の蛍光を、１時間（励起３２０ｎｍ、発光４０５ｎｍ）を１時間、１０分おきに監視した。各抗ＢＡＣＥ１抗体を四通り試験した。ＢＡＣＥ１活性の調節を、（（無酵素活性度）－（ＩｇＧ：酵素活性度））／（無酵素活性度）として計算した。正値は阻害を表し、負値は活性化を表す。

【０３７５】

この実験の結果を図２６中に示す。短基質アッセイで、酵素阻害（正比率）、及び酵素活性化（負値）が観察された。

【０３７６】

第２のアッセイで、ある特定の抗ＢＡＣＥ１抗体を以下の通り、ＨＴＲＦ　アッセイで試験した。ＢＡＣＥ１開裂に対する感度を増加させる置換基をもつアミロイド前駆体蛋白質ＢＡＣＥ１開裂部位ペプチドである、３７５ｎＭのＢｉ２７（ビオチン－ＫＴＥＥＩＳＥＶＮＬＤＡＥＦＲＨＤＳＧＹＥＶＨＨＱＫＬ（配列番号１８３）、Ａｍｅｒｉｃａｎ　Ｐｅｐｔｉｄｅ　Ｃｏｍｐａｎｙ））の２μｌを、ＢＡＣＥ反応バッファー（５０　ｍＭ

酢酸ナトリウム　ｐＨ　４．４　と　０．１％　ＣＨＡＰＳ）中、抗ＢＡＣＥ抗体と前保温処理した３μＬの１２５　ｎＭのＢＡＣＥ１と結合させた。蛋白質分解反応混合物を、周囲温度で７５分間インキュベートし、２　ｎＭのストレプトアビジン－Ｄ２と、検出バッファー（２００　ｍＭ　Ｔｒｉｓ　ｐＨ　８．０，２０　ｍＭ　ＥＤＴＡ，０．１％　ＢＳＡ，及び０．８Ｍ　ＫＦ）中、ユウロピウムクリプテートで標識した６Ｅ１０抗アミロイドβ抗体（Ｃｏｖａｎｃｅ，Ｅｍｏｒｙｖｉｌｌｅ，ＣＡ）の１５０　ｎＭを含む５μＬのＨＴＲＦ検出混合物を加えて反応停止した。最終反応混合物は、６０分間周囲温度でインキュベートし、ＴＲ－ＦＲＥＴシグナルを、３２０ｎｍの励起波長及び６１５と６６５ｎｍの発光波長でＥｎｖｉｓｉｏｎ　マルチラベルプレートリーダー－（Ｐｅｒｋｉｎ－Ｅｌｍｅｒ）を使用して測定した。ＢＡＣＥ１酵素を欠く反応（０　ＢＡＣＥ））及び不足の抗ＢＡＣＥ１抗体を含む反応（ＰＢＳ（１００％　ＢＡＣＥ１活性）を対照として使用した。更に、短ＦＲＥＴペプチド（Ｒｈ－ＥＶＮＬＤＡＥＦＫ－ｑｕｅｎｃｈｅｒ（配列番号１８５）、Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ）を使用した反応も、上記のＨＴＲＦ反応と同一に行った。

【０３７７】

ＢＡＣＥ１の合成ペプチド抑制剤、ＯＭ９９－２（ＣａｌＢｉｏｃｈｅｍ（登録商標）、Ｃａｔａｌｏｇ　＃　４９６０００）を対照として使用した。対照反応から得られる蛍光性産物は５４５ｎｍの励起波長と５８５ｎｍの発光波長で測定した以外は、上のように測定した。得られたデータは、ＧｒａｐｈＰａｄ　Ｐｒｉｓｍ５（商標）（ＬａＪｏｌｌａ，ＣＡ）を使用して分析した。

【０３７８】

この実験の結果を図２７中に示す。データモード「ｄｅｃｒｅａｓｉｎｇ」は阻害を示すが、一方「ｉｎｃｒｅａｓｉｎｇ」データモードは活性化を示す。

【０３７９】

いかなる特定の理論に束縛されることを意図するものではないが、いくつかの例では、アロステリック阻害剤による酵素活性の調節は基質に応じて活性の活性化または阻害をもたらす。例えば、アロステリック阻害剤に起因する立体配座の変化によって、１つの基質の結合がより改善し、別の基質の結合と干渉し、その結果、異なる、または反対の活性調節が生じる可能性がある。

【０３８０】

Ｅ．初代培養でのインビボ活性アッセイ

ＡＰＰ処理で観察された抗ＢＡＣＥ１抗体のインビトロ阻害作用が細胞文脈にも存在するかどうかを決定するために、インビボ試験も行った。内因性レベルの野生型ヒトアミロイド前駆体蛋白質を発現するマウス皮質ニューロン初代培養で、$Aβ_{x-40}$産生を阻害する抗体の能力を以下の通りに評価した。簡潔には、解離皮質ニューロン培養物をＥ１６．５　ＣＤ１マウスから調製した。ニューロンを９６ウエルプレートに2.5×10^{4}細胞／ウエルの密度で接種し、インビトロで、Ｎｅｕｒｏｂａｓａｌ培地（Ｌｉｆｅ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ）で5日間増殖した。８ポイント段階希釈で調製した抗ＢＡＣＥ抗体または対照ＩｇＧ１を含む５０μｌの新鮮培地を３７℃で２４時間、ニューロンとインキュベートした。細胞上清を集め、サンドイッチＥＬＩＳＡ法を使用してマウス$Aβ_{x-40}$の存在について評価した。簡潔には、$Aβ_{x-40}$（Ｍｉｌｌｉｐｏｒｅ，Ｂｅｄｆｏｒｄ，ＭＡ）のＣ末端に特異的なウサギポリクローナル抗体をプレート上に被覆し、ビオチン化抗マウスＡβモノクローナル抗体Ｍ３．２（Ｃｏｖａｎｃｅ，Ｄｅｄｈａｍ，ＭＡ）を検出用に使用した。アッセイは、血漿で１．９６　ｐｇ／ｍｌ及び脳で３９．１　ｐｇ／ｇの下限の定量化値を有した。ＣｅｌｌＴｉｔｅｒ－Ｇｌｏ　Ｌｕｍｉｎｅｓｃｅｎｔ　Ｃｅｌｌ　Ｖｉａｂｉｌｉｔｙ　Ａｓｓａｙ（Ｐｒｏｍｅｇａ）を使用して決定するとき、$Aβ_{x-40}$値を細胞生存性用に正規化した。データは、４－パラメータ非線形回帰曲線適合プログラム（Ｐｒｉｓｍ，Ｇｒａｐｈｐａｄ）を使用してプロットした。

【０３８１】

この実験の結果を図２８中に示す。阻害率（％）は、各抗体で見られる最大抑制（対照

の％として）を意味し、阻害率は以下の通りに決定した：（ベースラインＡβ$_{x-40}$－最小　Ａβ$_{x-40}$）ベースラインＡβ$_{x-40}$＊１００（無処理下のベースラインＡβ$_{x-40}$）。

【０３８２】

実施例１０：二重特異性抗ヒトＴｆＲ／抗ヒトＢＡＣＥ１抗体構築

ある特定の前記抗体変異体を、ＢＡＣＥ１（抗ＢＡＣＥ１抗体　６２６６）と特異的に結合する第２のアームをもつ二重特異性抗体として再フォーマット化した。抗ヒトＴｆＲ抗体１５Ｇ１１．ｖ５（抗ＴｆＲ^{1}）、１５Ｇ１１．ＬＣ９２Ａ（抗ＴｆＲ^{52A}）、及び　１５Ｇ１１．ＨＣ５３Ａ（抗ＴｆＲ^{53A}）を使用し、「ホールのノブ（ｋｎｏｂ　ｉｎ　ｈｏｌｅ）］二重特異性抗体構築技術（Ｃａｒｔｅｒ，Ｐ．（２００１）Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．Ｍｅｔｈｏｄｓ　２４８，７-１５；Ｒｉｄｇｗａｙ，Ｊ．Ｂ．，Ｐｒｅｓｔａ，Ｌ．Ｇ．，ａｎｄ　Ｃａｒｔｅｒ，Ｐ．（１９９６）Ｐｒｏｔｅｉｎ　Ｅｎｇ．９，６１７-６２１；Ｍｅｒｃｈａｎｔ，Ａ．Ｍ．，Ｚｈｕ，Ｚ．，Ｙｕａｎ，Ｊ．Ｑ．，Ｇｏｄｄａｒｄ，Ａ．，Ａｄａｍｓ，Ｃ．Ｗ．，Ｐｒｅｓｔａ，Ｌ．Ｇ．，ａｎｄ　Ｃａｒｔｅｒ，Ｐ．（１９９８）Ｎａｔ．Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ．１６，６７７-６８１；Ａｔｗｅｌｌ，Ｓ．，Ｒｉｄｇｗａｙ，Ｊ．Ｂ．，Ｗｅｌｌｓ，Ｊ．Ａ．，ａｎｄ　Ｃａｒｔｅｒ，Ｐ．（１９９７）Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．２７０，２６-３５）を用いて二重特異性のＴｆＲ結合アームを設計した。抗ＴｆＲ（ホール）及び抗ＢＡＣＥ１（ノブ）のＦｃでのノブとホール変異に加えて、半抗体は、（Ｎ２９７Ｇ）またはＬ２３４Ａ／Ｌ２３５Ａ／Ｐ３２９Ｇを含め、エフェクター機能を排除したＦｃ領域に変異を含む。加えて、ＹＴＥ（Ｍ２５２Ｙ／Ｓ２５４Ｔ／Ｔ２５６Ｅ）及びＡＩ（Ｎ４３４／Ｙ４３６Ｉ）変異が　抗ＴｆＲ^{52A}／ＢＡＣＥ１と抗ＴｆＲ^{2}／ＢＡＣＥ１二重特異性抗体の両方に組込まれた。Ｍ２５２Ｙ，Ｓ２５４Ｔ及びＴ２５６Ｅ（ＹＴＥ）を含むＦｃ受容体－新生児（ＦｃＲｎ）結合ドメイン変異（ＦｃＲｎ^{ＨＩＧＨ}変異）がＦｃＲｎ結合を増加させる結果、抗体の半減期を増加させることが記載されている。米国特許出願公開第２００３／０１９０３１１及びＤａｌｌ’Ａｃｑｕａ　ｅｔ　ａｌ．，Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．２８１：２３５１４－２３５２４（２００６）を参照されたい。更に、ＦｃＲｎ結合ドメイン変異Ｎ４３４Ａ　及びＹ４３６Ｉ（ＡＩ）がＦｃＲｎ結合も増加させることが記載されている。Ｙｅｕｎｇ　ｅｔ　ａｌ．，Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１８２：　７６６３－７６７１（２００９）を参照されたい。

【０３８３】

Ｋｕｎｋｅｌ突然変異誘発を使用して変異を構築し、抗体をＣＨＯ細胞で過渡的に発現させ、ノブ及びホール半抗体を蛋白質Ａクロマトグラフィー、次いでサイズ排除クロマトグラフィーを使用して精製した。二重特異性抗体の組立ては、抗体及び２００ｍｍアルギニン（ｐＨ　８．０）に１００ｘの比率で還元型グルタチオンを含むバッファー中、少なくとも3日間、室温で還元的アニーリングによって完了した。組立ての後、二重特異性抗体を疎水的相互作用クロマトグラフィーによって精製した。組立体を液体クロマトグラフィー質量分析及びＳＤＳ－ＰＡＧＥによって確認した。精製した抗体が均一かつ単分散であることをサイズ排除多角度光散乱分光法で確認した。

【０３８４】

ＦｃＲｎへのＹＴＥ変異抗体の結合を、ＢＩＡｃｏｒｅを使用して測定した。ヒト及びカニクイザルＦｃＲｎ蛋白質をＣＨＯで発現させ、ＩｇＧアフィニティークロマトグラフィーを使用して精製した。ビアコアＴ２００機器でデータを取得した。シリーズＳセンサーチップＣＭ５（ＧＥ　Ｈｅａｌｔｈｃａｒｅ，Ｃａｔ．ＢＲ１００５３０）を、供給者の使用説明書に従ってＥＤＣ及びＮＨＳ試薬で活性化し、抗Ｆａｂ抗体（Ｈｕｍａｎ　Ｆａｂ　ｃａｐｔｕｒｅ　ｋｉｔ，ＧＥ　Ｈｅａｌｔｈ　ｃａｒｅ　Ｂｉｏ－ｓｃｉｅｎｃｅ．ＡＢ　ＳＥ－７５１８４，ｕｐｓａｌａ，Ｓｗｅｄｅｎ）を結合し、約１０，０００レスポンスユニット（ＲＵ）を得た後、１Ｍのエタノールアミンで非反応基をブロッキングした。親和性測定のため、最初に抗体を１０μｌ／分の流速で注入し、ＦＣ１（参照）以外の３つの異なるフローセル（ＦＣ）上で約１０００　Ｒｕを捕獲し、次いでｐＨ６バ

ッファー（０．１Ｍ　リン酸ナトリウム）のヒトＦｃＲｎ（またはＣｙｎｏ　ＦｃＲｎ）の２倍段階希釈液を低（１　ｎＭ）から高（２５μＭ）まで交互に、注入の間に再生せずに、同じ周期で注入（流速：３０μｌ／分）した。センサーグラムを記録、基準に従ってバッファー控除してからＢＩＡｃｏｒｅ　Ｔ２００　Ｅｖａｌｕａｔｉｏｎ　Ｓｏｆｔｗａｒｅ（ｖｅｒｓｉｏｎ　２．０）を使用して評価した。親和性は、１：１結合モデルに基づいて定常状態で結合レベルを分析して決定した。表１１は、ｐＨ６で表面プラズモン共鳴によって測定した、ヒト及びカニクイザルＦｃＲｎに対する、抗ＢＡＣＥ１抗体６２６６アームを含む特定のＦｃＲｎ^{ＨＩＧＨ}二重特異性抗体の親和性を示す。

表１１：ヒト及びｃｙｎｏ　ＦｃＲｎに対するＦｃＲｎ^{ＨＩＧＨ}二重特異性抗体の親和性

抗体	エフェクター機能	FcRn高	ヒト FcRn, pH6 KD（uM）	ヒト FcRn, pH6 倍数 親は陰影	Cyno FcRn, pH6 KD（uM）	Cyno FcRn, pH6 倍数 親は陰影
Anti-TfR.52A/6266.hIgG1.LALAPG	LALAPG	野生	0.8	1.0	1.2	1.0
Anti-TfR.52A/6266.hIgG1.LALAPG.YTE	LALAPG	YTE	0.2	4.0	0.2	6.0
Anti-TfR2/6266.hIgG1.LALAPG	LALAPG	野生	1.1	1.0	1.2	1.0
Anti-TfR2/6266.hIgG1.LALAPG.YTE	LALAPG	YTE	0.3	3.7	0.2	6.0

【０３８５】

ヒト及びカニクイザルＴｆＲに対する二重特異性抗体の親和性を表面プラズモン共鳴（ＳＰＲ）（Ｂｉａｃｏｒｅ（商標）、ＧＥ　Ｈｅａｌｔｈｃａｒｅ）を使用して決定した。ストレプトアビジン（Ｓｉｇｍａ）をシリーズＢＩＡＣＯＲＥ（商標）ＣＭ５センサーチップ（Ｂｉａｃｏｒｅ，Ｉｎｃ．，Ｐｉｓｃａｔａｗａｙ，ＮＪ）の４つの異なるフローセル上に２０００～３０００ＲＵで結合させた。固定化は、製造者により提供されたプロトコルを用いてアミノ基を通してランダム結合によって達成した。１０Ｘ　ＨＢＳ－Ｐ（Ｂｉａｃｏｒｅ，Ｉｎｃ．、Ｐｉｓｃａｔａｗａｙ、ＮＪ）を水で希釈し、希釈用及び泳動用バッファーとして供給した。精製したビオチン標識ヒトまたはｃｙｎｏ　ＴｆＲを捕捉し、次いで、シングルサイクルカイネティクス解析方法によって３倍希釈系列の二重特異性抗体を流速３０ｍｌ／分で注入した。k_{on}またはk_{off}が検出限界を超えた場合、単純一対一ラングミュア結合モデルまたは定常状態モデルを使用して親和性定数を決定した。平衡解離定数（K_D）は、結合速度定数（（k_{on}）と解離速度定数（k_{off}）の比率として計算した表１２は解離定数を示す。

表１２：ヒト及びｃｙｎｏ　ＴｆＲに対する二重特異性抗体の親和性

二重特異性抗体	KD（nM）	
	ヒトTfR	CynoTfR
Anti-TfR.52A/6266.hIgG1.LALAPG.YTE	64±0.7	299±33
Anti-TfR2/6266.hIgG1.LALAPG.YTE	275±25	1650±32
Anti-TfR1/6266.hIgG1.N297G	9±0.3	23.7±2

【０３８６】

実施例１１：二重特異抗体のインビボ活性

細胞の文脈におけるＡＰＰ処置への抗ＢＡＣＥ１抗体及び二重特異性抗体の阻害作用を

評価するため、内因性レベルの野生型ヒトアミロイド前駆体蛋白質を発現するマウス皮質ニューロン初代培養におけるAβ$_{x-40}$産生を阻害する抗体の能力を以下の通りに評価した。簡潔には、解離皮質ニューロン培養物をＥ１６．５　ＣＤ１マウスから調製した。ニューロンを９６ウエルプレートに２．５×１０^{4}細胞／ウエルの密度で接種し、インビトロで、Ｎｅｕｒｏｂａｓａｌ培地（Ｌｉｆｅ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ）で5日間増殖した。８ポイント段階希釈で調製した抗ＢＡＣＥ抗体または対照ＩｇＧ１を含む５０ｍｌの新鮮培地を３７℃で２４時間、ニューロンとインキュベートした。細胞上清を集め、サンドイッチＥＬＩＳＡ法を使用してマウス　Aβ$_{x-40}$　の存在について評価した。簡潔には、Aβ$_{x-40}$（Ｍｉｌｌｉｐｏｒｅ，Ｂｅｄｆｏｒｄ，ＭＡ）のＣ末端に特異的なウサギポリクローナル抗体をプレート上に被覆し、ビオチン化抗マウスＡβモノクローナル抗体Ｍ３．２（Ｃｏｖａｎｃｅ，Ｄｅｄｈａｍ，ＭＡ）を検出用に使用した。ＣｅｌｌＴｉｔｅｒ－Ｇｌｏ　Ｌｕｍｉｎｅｓｃｅｎｔ　Ｃｅｌｌ　Ｖｉａｂｉｌｉｔｙ　Ａｓｓａｙ（Ｐｒｏｍｅｇａ）を使用して決定するとき、Aβ$_{x-40}$値を細胞生存性用に正規化した。データは、４－パラメータ非線形回帰曲線適合プログラム（Ｐｒｉｓｍ，Ｇｒａｐｈｐａｄ）を使用してプロットした。

【０３８７】

この実験の結果を図２９中に示す。抗体ＹＷ４１２．８．３１によって示された２．９ｎＭのＩＣ$_{50}$及び６２％の最大阻害と比較して、抗体６２６６は１．７　ｎＭのＩＣ$_{50}$と７４％の最大阻害を有した。抗体ＴｆＲ^{2}／ＹＷ４１２．８．３１での１１　ｎＭのＩＣ$_{50}$及び５４％の最大阻害と比較して、二重特異性抗体ＴｆＲ^{2}／６２６６は１．７　ｎＭのＩＣ$_{50}$と７９％の最大阻害を有した。

【０３８８】

実施例１２：カニクイザルにおける二重特異性抗体の薬物動態及び薬力学

マウスでの単回抗体投与後の薬物動態及び薬力学分析を以下の通りに行った。野生型雌のＣ５７Ｂ／６匹のマウス６～８週齢を全試験で使用した。動物の管理は機関ガイドラインに従った。マウスに、各々、ｈｕＩｇＧ１　Ｎ２９７Ｇアイソタイプの形式とした単回２５ｍｇ／ｋｇ用量の抗ｇＤ抗体（ヒトＩｇＧ１）、抗ＴｆＲ^{D}／ＹＷ４１２．８．３１抗体（ラット／ヒトキメラ）、または抗ＴｆＲ^{D}／６２６６抗体（ラット／ヒトキメラ）を静脈投与した。全注入量は２５０μＬを超えなかった。また抗体は必要なときにＤ－ＰＢＳに希釈した。２４時間後に、全血をＥＤＴＡマイクロティナ管（ＢＤ　Ｄｉａｇｎｏｓｔｉｃｓ）に潅注する前に収集し、室温で３０分間静置し、１０分間５０００ｘ　ｇで遠沈させた。血漿の上層を抗体測定用の新しい管に移した。

【０３８９】

マウス血漿中の全抗体濃度を、抗ヒトＦｃ／抗ヒトＦｃ　ＥＬＩＳＡを使用して測定した。ＮＵＮＣ　３８４ウエルマキシソープイムノプレート（Ｎｅｐｔｕｎｅ，ＮＪ）をロバ抗ヒトＦｃ抗体で被覆し、次いで１：２０の希釈で血漿試料の添加を開始し、検出用の西洋ワサビペルオキシダーゼと複合体化したヤギ抗ヒトＦｃ抗体を加えて終了させた。アッセイは、０．１５６～２０ｎｇ／ｍｌの範囲の検量線を得て、検出限界は０．００３μｇ／ｍＬであった。検出限界以下の結果は報告可能未満（ＬＴＲ）として報告した。実験群間の差異の統計分析は、両側独立ｔ検定を使用して行った。二重特異性抗体の単回投与を処方したマウス脳内Aβ$_{x-40}$の減少を、実質上実施例１１に記載したように決定した。

【０３９０】

Ｆｃ　Ｎ２９７Ｇ変異を含む抗ＴｆＲ^{D}／ＢＡＣＥ１抗体の投与時に、マウスは、完全なエフェクター機能をもつ抗体の使用で、以前に観察されたような臨床症状を示さなかった。Ｃｏｕｃｈ　ｅｔ　ａｌ．，Ｓｃｉ．Ｔｒａｎｓ．Ｍｅｄ．５：１８３ｒａ５７（２０１３）を参照されたい。

【０３９１】

図３０に薬物動態分析の結果を示す。抗ＴｆＲ^{D}／ＹＷ４１２．８．３１二重特異性抗体及び抗ＴｆＲ^{D}／６２６６二重特異性抗体は類似の薬物動態を示した。

【０３９２】
図３１は、二重特異性抗体の単回投与後のマウス脳での薬物動態（Ａ）及び薬力学（Ｂ）分析結果を示す。図３１Ａに示すように、抗ＴｆＲ^{D}／ＹＷ４１２．８．３１二重特異性抗体は、抗ＴｆＲ^{D}／６２６６二重特異性抗体よりわずかに高い脳抗体濃度を示した。図３１Ｂに示したように、脳Ａβ$_{40}$は投与後２日で抗ＴｆＲ^{D}／６２６６二重特異性抗体（対照から５５％減少）を処方したマウスで顕著に低く、比較の抗ＴｆＲ^{D}／ＹＷ４１２．８．３１二重特異性抗体は対照から４１％の減少であった（ｐ＜０．０５）。これらの結果は、抗ＴｆＲ^{D}／６２６６二重特異性抗体が、脳でより良好な最大ＢＡＣＥ１阻害とＡβ減少を提供することを示唆する。

【０３９３】
実施例１３：カニクイザルにおける二重特異性抗体の薬物動態及び薬力学
インビボでの薬剤濃度、薬力学的影響、及び二重特異性抗体ヒトＴｆＲ／ＢＡＣＥ１抗体の安全性を評価するため、実施例５で実質上記載したように、カニクイザル（Ｍａｃａｃａ　ｆａｓｃｉｃｕｌａｒｉｓ）に抗ＴｆＲ^{1}／ＹＷ４１２．８．３１または抗ＴｆＲ^{1}／６２６６二重特異性抗体を投与した。これらの二重特異性抗体は、前述のとおり、エフェクター機能を排除するＮ２９７Ｇ変異をもつヒトＩｇＧ１の形式であった。対照として、ヒトＩｇＧ１の抗ｇＤ分子を使用した。抗体は、留置大槽カテーテルを用いて、覚醒カニクイザルに３０ｍｇ／ｋｇの用量で伏在静脈に、単回静脈内（ＩＶ）ボーラス注入法で投与した。様々な時点で、血漿、血清、及び（ＣＳＦ）を採取した。試料分析は、実施例５で実質上記載したように、血液学（全血）、臨床化学（血清）、抗体濃度（血清とＣＳＦ）、及び抗体に対する薬力学的応答（血漿とＣＳＦ）を含んだ。

【０３９４】
図３２Ａは、抗ＴｆＲ^{1}／ＹＷ４１２．８．３１及び抗ＴｆＲ^{1}／６２６６の薬物動態分析の結果を示す。両方の抗ＴｆＲ／ＢＡＣＥ１抗体が抗ｇＤより速く除去されたのは末梢の標的媒介性クリアランスに起因している可能性があった。表１３は、本実施例での各抗体のＰＫパラメータを示す。
表１３：カニクイザル（ｎ＝５）における３０ｍｇ／ｋｇでの単回ＩＶボーラス投与処方後の全試験抗体の平均（±ＳＤ）ＰＫパラメータ推定値

抗体	AUC_{all} (day • μg/mL)	AUC_{inf} (day • μg/mL)	C_{max} (μg/mL)	CL (mL/day/kg)	V_{ss} (mL/kg)
抗-gD	5210 ± 603	5550 ± 862	952 ± 69.9	5.51 ± 0.882	51.4 ± 8.30
抗-TfR^{1}/YW412.8.31	1600 ± 208	1600 ± 208	727 ± 71.3	19.0 ± 2.44	42.1 ± 3.47
抗-TfR^{1}/6266	1870 ± 288	1870 ± 290	1020 ± 99.4	16.3 ± 2.28	31.2 ± 3.75

SD＝標準偏差；IV ＝静脈；AUC_{all}＝時間０から最終測定可能濃度の時間までの濃度－時間曲線の下の領域；AUC_{inf} ＝無限まで外挿した濃度－時間曲線の下の領域；C_{max}＝観察された最大血清中濃度；CL＝クリアランス；V_{ss}＝定常状態における分散体積；Min＝最小；Max＝最大.

【０３９５】
二重特異性抗体投与に応じた薬力学的影響を調査するため、実施例５で実質上記載したように、カニクイザルＣＳＦのＡｂｅｔａ$_{1-40}$レベルを、抗Ａｂｅｔａ$_{1-40}$特異的ポリクローナル抗体コートを使用してＥＬＩＳＡで測定し、次いで、試料を加え、検出用の西洋ワサビペルオキシダーゼと複合体化したマウス抗ヒトＡｂｅｔａ$_{1-40}$モノクローナル抗体を加えて終了させた。

【０３９６】
図３２Ｂは、ＣＳＦでの二重特異性抗体の薬力学的挙動を示す。ＣＳＦ　Ａβ４０は、抗ＴｆＲ^{1}／６２６６二重特異性抗体（ベースラインから６７％減少）を投与した動物で、抗ＴｆＲ^{1}／ＹＷ４１２．８．３１二重特異性抗体（ベースラインから５６％減少）を投与した動物より顕著に低かった。効果の持続期間は両抗体で類似した。これらの結果は、マウスで観察された結果と類似して、抗ＴｆＲ^{1}／６２６６二重特異性抗体が、脳でより良好な最大ＢＡＣＥ１阻害とＡβ減少を提供することを示唆する。
【０３９７】
実施例１４：カニクイザルにおけるＦＣＲＮ^{ＨＩＧＨ}二重特異性抗体の薬物動態及び薬力学
インビボでの薬剤濃度、薬力学的影響、及びＦｃＲｎ^{ＨＩＧＨ} ニ重特異性抗ヒトＴｆＲ／ＢＡＣＥ１抗体の安全性を評価するため、カニクイザル（Ｍａｃａｃａ ｆａｓｃｉｃｕｌａｒｉｓ）に抗ＴｆＲ^{2}／６２６６（ＩｇＧ１．ＬＡＬＡＰＧ）、抗ＴｆＲ^{2}／６２６６ ＦｃＲｎ^{ＨＩＧＨ}（ＩｇＧ１．ＬＡＬＡＰＧ．ＹＴＥ）、抗ＴｆＲ^{52Ａ}／６２６６（ＩｇＧ１．ＬＡＬＡＰＧ）、及び抗ＴｆＲ^{52Ａ}／６２６６ ＦｃＲｎ^{ＨＩＧＨ}（ＩｇＧ１．ＬＡＬＡＰＧ．ＹＴＥ）を投与した。対照として、ヒトＩｇＧ１の抗ｇＤ分子を使用した。抗体は、留置大槽カテーテルを用いて、覚醒カニクイザルに３０ｍｇ／ｋｇの用量で伏在静脈に、単回静脈内（ＩＶ）ボーラス注入法で投与した。様々な時点で、血漿、血清、及び（ＣＳＦ）を採取した。試料分析は、血液学（全血）、臨床化学（血清）、抗体濃度（血清とＣＳＦ）、及び抗体に対する応じた薬力学的応答（血漿とＣＳＦ）を含んだ。詳細な試料採スキームに関しては図３３を参照されたい。
【０３９８】
カニクイザル血清及びＣＳＦ中の投与した抗体の濃度を、抗体被覆を吸着したヒツジ抗ヒトＩｇＧサルを使用したＥＬＩＳＡで測定し、次いで、１：１００の希釈で開始した血清試料を加え、検出用に吸着したサル西洋ワサビペルオキシダーゼと複合体化したヤギ抗ヒトＩｇＧ抗体を添加して終了させた。アッセイは、０．７８－５０ｎｇ／ｍｌの範囲の検量線を得て、検出限界は０．０８μｇ／ｍＬであった。検出限界以下の結果は報告可能未満（ＬＴＲ）として報告した。更に、未熟な総網赤血球数を、製造者の指示書に従ってＡＤＶＩＡ １２０ Ｈｅｍａｔｏｌｏｇｙ Ｓｙｓｔｅｍ（Ｓｉｅｍａｎｓ Ｈｅａｌｔｈｃａｒｅ，Ｓｉｅｍａｎｓ ＡＧ，Ｅｒｌａｎｇｅｎ，Ｇｅｒｍａｎｙ）を使用して決定した。
【０３９９】
図３４Ａ～Ｂは、血清中の二重特異性抗体の薬物動態分析結果を示す。ＦｃＲｎ^{ＨＩＧＨ}二重特異性抗体による末梢性曝露が、抗ＴｆＲ^{2}／６２６６及び抗ＴｆＲ^{52Ａ}／６２６６抗体の両方で改善された。表１４は、本実施例での各抗体のＰＫパラメータを示す。
表１４：ＦｃＲｎ^{ＨＩＧＨ}二重特異性抗体の薬物動態

抗体	AUC_{all} (day • μg/mL)	AUC_{inf} (day • μg/mL)	C_{max} (μg/mL)	CL (mL/day/kg)	V_{ss} (mL/kg)
抗- gD	9560 ± 1790	10200 ± 1980	1040 ± 131	3.02 ± 0.577	48.4 ± 5.87
抗- TfR^{2}/6266	6000 ± 131	6340 ± 367	960 ± 175	4.74±0.74	58.8 ± 3.73
抗- TfR^{2}/6266 $FcRn^{HIGH}$	8740 ± 816	11100 ± 1060	834 ± 121	2.73±0.251	72.5 ± 6.18
抗- TfR^{52A}/6266	3520 ± 599	3520 ± 640	859 ± 210	8.62±1.37	47.4 ± 6.79
抗- TfR^{52A}/6266 $FcRn^{HIGH}$	4340 ± 212	4410 ± 241	751 ± 96.2	6.81±0.384	69.3 ± 1.64

SD＝標準偏差；IV ＝静脈；AUC_{all}＝時間０から最終測定可能濃度の時間までの濃度－時間曲線の下の領域；AUC_{inf} ＝無限まで外挿した濃度－時間曲線の下の領域；C_{max}＝観察された最大血清中濃度；CL＝クリアランス；V_{ss}＝定常状態における分散体積；Min＝最小；Max＝最大.

【０４００】
表１４に示すように、ＦｃＲｎ^{ＨＩＧＨ}二重特異性抗体のクリアランス速度が抗ＴｆＲ^{2}／６２６６及び抗ＴｆＲ^{52Ａ}／６２６６の両方で改善された。
【０４０１】
抗ＴｆＲ／ＢＡＣＥ１投与に応じて薬力学的影響をみるために、カニクイザルのＣＳＦ中のＡｂｅｔａ$_{1-40}$を測定した。Ａｂｅｔａ$_{1-40}$を、抗Ａｂｅｔａ$_{1-40}$特異的ポリクローナル抗体コートを使用してＥＬＩＳＡで測定し、次いで、試料を加え、検出用の西洋ワサビペルオキシダーゼと複合体化したマウス抗ヒトＡｂｅｔａ$_{1-40}$モノクローナル抗体を加えて終了させた。アッセイは、血漿で６０ｐｇ／ｍｌの検出限界、ＣＳＦで１４０ｐｇ／ｍｌの検出限界を有する。検出限界以下の結果は報告可能未満（ＬＴＲ）として報告した。
【０４０２】
図３５Ａ～Ｂは、抗体の薬力学的挙動を示す。薬力学的応答が、ＦｃＲｎ^{ＨＩＧＨ}変異によって抗ＴｆＲ^{2}／６２６６及び抗ＴｆＲ^{52Ａ}／６２６６抗体で改善された。
【０４０３】
図３６Ａ～Ｂは、上記の二重特異性抗体を処方したカニクイザルの網状赤血球レベルを示す。
【０４０４】
安全性シグナルは本研究で観察されなかった。投与６０日間後に、任意の３０ｍｇ／ｋｇの二重特異性抗体を処方したサルのあらゆる血液学または臨床化学パラメータに明白な影響はなかった。重要なことに、網状赤血球レベルは、抗ＴｆＲ^{2}／６２６６または抗ＴｆＲ^{52Ａ}／６２６６のいずれかでの処理による影響を受けなかったことは、これらの抗体はエフェクター機能障害性であり、また高ＴｆＲレベルを有した初期網状赤血球の全体水準が通常の霊長類で非常に低いことから、予想通りであった（実施例４を参照）。
【０４０５】
実施例１５：６２６６抗体の親和性成熟
抗体６２６６は以下の通り親和性が最大化した。
【０４０６】
ＮＮＫ ｗａｌｋ ｌｉｂｒａｒｙ ｄｅｓｉｇｎとファージディスプレイパニング
ライブラリーランダム化のため、ＣＤＲの各位置を「ＮＮＫ」コドンを使ったオリゴヌクレオチド特異的突然変異生成によってランダム化し、Ｎは任意の４つの天然ヌクレオチドであり、Ｋは５０％ Ｔ（チミン）と５０％ Ｇ（グアニン）である。ＮＮＫコドンは２０個の任意のアミノ酸をコード化することができる。軽鎖及び重鎖のライブラリーを別々に作製し、各鎖の３つの各ＣＤＲを同時にランダム化した。この結果、各鎖に０～３個のアミノ酸変化を有するクローンが得られ、各ＣＤＲで最大１つの変異が起きた。ライブラリーは、標準方法によりファージＦａｂ断片展示ベクターで作製した。結合クローンは、連続の選別ラウンドで５，０．５，及び０．１ ｎＭビオチン化ＢＡＣＥ１とファージディスプレイライブラリーをインキュベートした後、ＢＡＣＥ１への親和性がより低いクローンの結合を抑制するため、室温または３７°Ｃで１００ ｎＭ 非ビオチン化ＢＡＣＥ１で競合させることよって選別した。結合クローンを、ニュートラアビジン（ＮｅｕｔｒＡｖｉｄｉｎ）で被覆したＥＬＩＳＡプレートで捕捉し、１００ｍＭのＨＣｌ中、２０分間、室温で溶出した。溶出したファージを１／１０体積の１Ｍ Ｔｒｉｓ ｐＨ ８．０で中和し、選別の次ラウンドの増幅用大腸菌に感染させるために使用した。
【０４０７】
ディープシークエンシングとデータ分析
ディープシークエンシングのため、ファージミドＤＮＡを選別ラウンドから分離した。各試料からのＶＨ及び ＶＬをＰｈｕｓｉｏｎ ＤＮＡポリメラーゼ（Ｎｅｗ Ｅｎｇｌａｎｄ Ｂｉｏｌａｂｓ）を使用して１８サイクルＰＣＲ増幅によって増幅させた。アンプリコンを２％アガロースゲル上で精製した。アンプリコンをＴｒｕＳｅｑ ＤＮＡ Ｓａｍｐｌｅ Ｐｒｅｐ（Ｉｌｌｕｍｉｎａ）を使用した標準Ｉｌｌｕｍｉｎａライブラリ

ー調製方法で調製した。アダプターを結合したライブラリーをＰＣＲの単一サイクルにかけて、アンプリコンの全長をカバーするために手適切な末端対２００ｂｐまたは３００ｂｐをＩｌｌｕｍｉｎａ　ＭｉＳｅｑで配列決定した。配列決定データは、統計プログラミング言語、ＲパッケージとＳｈｏｒｔＲｅａｄパッケージを使用して解析した。品質管理は、識別されたＣＤＲ配列に対して行い、各ＣＤＲ配列で正確な長さのチェック、ＮＮＫ変異及び非ＮＮＫ変異だけを調査した。全てのランダム化位置の全変異の頻度を計算し、位置重みづけマトリックスを作成した。全単一変異の濃縮比は、Ｆｏｗｌｅｒ等よって以前記載されたように、分類化試料の所定位置での所定変異の頻度を、非分類化試料における所定位置での所定変異の頻度で除することによって計算した。二重変異の濃縮比は、２つの所定位置でのＮＮＫ変異をもつ全クローンの濃縮比を計算することによって得、第３のＮＮＫ変異は無視した。試料採取の影響を除去するため、分類化または非分類化試料のいずれかで１０個の配列カウントを分析から除いた。エピスタシスを、乗法的モデル：ＥｎｒｉｃｈＡＢ＝ＥｎｒｉｃｈＡ　ｘ　ＥｎｒｉｃｈＢにおける単一及び重複変異からの濃縮比を結合することによって計算した。従って、エピスタシスは、Ｅｐｉｓｔａｓｉｓ＝ＥｎｒｉｃｈＡＢ　－　ＥｎｒｉｃｈＡ　ｘ　ＥｎｒｉｃｈＢ．として定義される。単一変異分析と重複変異分析からの最大濃縮化変異を合成のために選別した。

【０４０８】

図３７及び３８は、親和性成熟抗体６２６６変異体１～１５の重鎖及び軽鎖可変領域配列を示す。

【０４０９】

表面プラズモン共鳴による親和性決定

シングルサイクルカイネティクスによる抗ＢＡＣＥ１Ｆａｂ抗体の結合親和性を、ＢＩＡｃｏｒｅ（商標）－Ｔ２００機器を使った表面プラズモン共鳴（ＳＲＰ）測定によって決定した。簡潔には、シリーズＳセンサーチップＣＭ５を、供給者の使用説明書に従ってＥＤＣ及びＮＨＳ試薬で活性化し、抗Ｈｉｓ抗体を結合して約１０００レスポンスユニット（ＲＵ）を得た後、１Ｍのエタノールアミンで非反応基をブロックした。速度論測定のために、最初にＨｉｓタグＢＡＣＥ１蛋白質を１０μｌ／分の流速で注入し、ＦＣ１（参照）以外の３つの異なるフローセル（ＦＣ）上で約１００Ｒｕを捕獲し、次いでＨＢＳ－Ｐ　バッファー（０．０１Ｍ　ＨＥＰＥＳ　ｐＨ７．４、０．１５ＭのＮａＣｌ、０．００５％界面活性剤Ｐ２０）中、Ｆａｂの５倍段階希釈を低（０．０８ｎＭ）から高（５０ｎＭ）まで交互に、注入の間に再生せずに、同じ周期で注入（流速：３０ｍｌ／分）した。センサーグラムを記録し、基準に従ってバッファー控除してからＢＩＡｃｏｒｅ（商標）Ｔ２００　Ｅｖａｌｕａｔｉｏｎ　Ｓｏｆｔｗａｒｅ（ｖｅｒｓｉｏｎ　２．０）を使用して評価した。会合速度（k_{on}）及び解離速度（k_{off}）は、単純一対一ラングミュア結合モデルを使用して計算した。平衡解離定数（Ｋｄ）は、k_{off}／k_{on}比として計算した。

【０４１０】

示差走査蛍光定量法（ＤＳＦ）による熱融解温度（Ｔｍ）

ＤＳＦは蛍光色素の存在下で蛋白質の熱アンフォールディングを監視し、一般的にリアルタイムＰＣＲ機器（例えば、Ｂｉｏ－Ｒａｄ　ＣＦＸ）を使用して行う。ＳＹＰＲＯオレンジ色素（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ，ｃａｔ．ｎｏ．Ｓ６６５０）がＰＢＳで１：２０に希釈される。１μｌの希釈色素を１ウエルの２４μｌのＦａｂ蛋白質（～１００ｕｇ／ｍｌ）に加える。温度をリアルタイムＰＣＲ機器（ＢｉｏＲａｄ　ＣＦＸ）で２０℃から１００℃まで上昇させ、蛍光強度をプロットし、遷移曲線（Ｔｍ）の変曲点を，例えばボルツマン方程式を使って計算する。Ｎａｔｕｒｅ　Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ，２００７，２：２２１２－２２２１を参照されたい。

【０４１１】

図３９は、親和性成熟抗体６２６６変異体１～１５の会合速度、解離速度、解離定数、及び融点を示す。全変異体が抗体６２６６と比較して改善した親和性（K_D）を示した。

【０４１２】

実施例１６－二重特異性抗体配列の修飾

抗ＴｆＲ／ＢＡＣＥ１二重特異性抗体の安定性を促進するため、位置１０８のメチオニンがロイシン（Ｍ１０８Ｌ）へ変化した重鎖可変領域の変異を組み込むことができる。表１５に示すように、Ｍ１０８Ｌ変異を含む抗ＴｆＲ　Ｆａｂの結合親和性は非修飾Ｆａｂと類似した。

表１５；抗ＴｆＲ　Ｆａｂの結合親和性

	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (M)
抗TfR.52A.Fab	3.71E+05	0.0204	5.50E-08
抗TfR.52A.M108L.Fab	3.20E+05	0.02312	7.22E-08

【０４１３】

Ｍ１０８Ｌ変異をもつ抗ＴｆＲ^{2}．ｈＩｇＧ１．ＬＡＬＡＰＧ．ＹＴＥ重鎖を含む抗ＴｆＲアームを含む二重特異性抗体（配列番号３９４）は、Ｍ１０８Ｌ重鎖変異をもたない同じ抗ＴｆＲアームを含む二重特異性抗体より安定であり、同時にＴｆＲへの結合親和性も保持する。

【０４１４】

上述の発明は、明確な理解のための例示説明および例としてある程度詳細に記載されたが、これらの説明および例は、本発明の範囲を限定するものとして解釈されるべきではない。本明細書で引用される全ての特許および科学文献の開示は、参照によりそれらの全体が明示的に組み込まれる。

ある特定の配列表

配列番号	種類	配列
1	ヒト(human)TfR	MMDQARSAFS NLFGGEPLSY TRFSLARQVD GDNSHVEMKL AVDEEENADN NTKANVTKPK RCSGSICYGT IAVIVFFLIG FMIGYLGYCK GVEPKTECER LAGTESPVRE EPGEDFPAAR RLYWDDLKRK LSEKLDSTDF TSTIKLLNEN SYVPREAGSQ KDENLALYVE NQFREFKLSK VWRDQHFVKI QVKDSAQNSV IIVDKNGRLV YLVENPGGYV AYSKAATVTG KLVHANFGTK KDFEDLYTPV NGSIVIVRAG KITFAEKVAN AESLNAIGVL IYMDQTKFPI VNAELSFFGH AHLGTGDPYT PGFPSFNHTQ FPPSRSSGLP NIPVQTISRA AAEKLFGNME GDCPSDWKTD STCRMVTSES KNVKLTVSNV LKEIKILNIF GVIKGFVEPD HYVVVGAQRD AWGPGAAKSG VGTALLLKLA QMFSDMVLKD GFQPSRSIIF ASWSAGDFGS VGATEWLEGY LSSLHLKAFT YINLDKAVLG TSNFKVSASP LLYTLIEKTM QNVKHPVTGQ FLYQDSNWAS KVEKLTLDNA AFPFLAYSGI PAVSFCFCED TDYPYLGTTM DTYKELIERI PELNKVARAA AEVAGQFVIK LTHDVELNLD YERYNSQLLS FVRDLNQYRA DIKEMGLSLQ WLYSARGDFF RATSRLTTDF GNAEKTDRFV MKKLNDRVMR VEYHFLSPYV SPKESPFRHV FWGSGSHTLP ALLENLKLRK QNNGAFNETL FRNQLALATW TIQGAANALS GDVWDIDNEF
2	霊長類(primate)TfR; Genbank登録番号AFD18260.1	MMDQARSAFS NLFGGEPLSY TRFSLARQVD GDNSHVEMKL GVDEEENTDN NTKPNGTKPK RCGGNICYGT IAVIIFFLIG FMIGYLGYCK GVEPKTECER LAGTESPARE EPEEDFPAAP RLYWDDLKRK LSEKLDTTDF TSTIKLLNEN LYVPREAGSQ KDENLALYIE NQFREFKLSK VWRDQHFVKI QVKDSAQNSV IIVDKNGGLV YLVENPGGYV AYSKAATVTG KLVHANFGTK KDFEDLDSPV NGSIVIVRAG KITFAEKVAN AESLNAIGVL IYMDQTKFPI VKADLSFFGH AHLGTGDPYT PGFPSFNHTQ FPPSQSSGLP NIPVQTISRA AAEKLFGNME GDCPSDWKTD STCKMVTSEN KSVKLTVSNV LKETKILNIF GVIKGFVEPD HYVVVGAQRD AWGPGAAKSS VGTALLLKLA QMFSDMVLKD GFQPSRSIIF

		ASWSAGDFGS VGATEWLEGY LSSLHLKAFT YINLDKAVLG TSNFKVSASP LLYTLIEKTM QDVKHPVTGR SLYQDSNWAS KVEKLTLDNA AFPFLAYSGI PAVSFCFCED TDYPYLGTTM DTYKELVERI PELNKVARAA AEVAGQFVIK LTHDTELNLD YERYNSQLLL FLRDLNQYRA DVKEMGLSLQ WLYSARGDFF RATSRLTTDF RNAEKRDKFV MKKLNDRVMR VEYYFLSPYV SPKESPFRHV FWGSGSHTLS ALLESLKLRR QNNSAFNETL FRNQLALATW TIQGAANALS GDVWDIDNEF
3	マウス(mouse) Tfr; Genbank 登録番号 AAH54522.1	MMDQARSAFS NLFGGEPLSY TRFSLARQVD GDNSHVEMKL AADEEENADN NMKASVRKPK RFNGRLCFAA IALVIFFLIG FMSGYLGYCK RVEQKEECVK LAETEETDKS ETMETEDVPT SSRLYWADLK TLLSEKLNSI EFADTIKQLS QNTYTPREAG SQKDESLAYY IENQFHEFKF SKVWRDEHYV KIQVKSSIGQ NMVTIVQSNG NLDPVESPEG YVAFSKPTEV SGKLVHANFG TKKDFEELSY SVNGSLVIVR AGEITFAEKV ANAQSFNAIG VLIYMDKNKF PVVEADLALF GHAHLGTGDP YTPGFPSFNH TQFPPSQSSG LPNIPVQTIS RAAAEKLFGK MEGSCPARWN IDSSCKLELS QNQNVKLIVK NVLKERRILN IFGVIKGYEE PDRYVVVGAQ RDALGAGVAA KSSVGTGLLL KLAQVFSDMI SKDGFRPSRS IIFASWTAGD FGAVGATEWL EGYLSSLHLK AFTYINLDKV VLGTSNFKVS ASPLLYTLMG KIMQDVKHPV DGKSLYRDSN WISKVEKLSF DNAAYPFLAY SGIPAVSFCF CEDADYPYLG TRLDTYEALT QKVPQLNQMV RTAAEVAGQL IIKLTHDVEL NLDYEMYNSK LLSFMKDLNQ FKTDIRDMGL SLQWLYSARG DYFRATSRLT TDFHNAEKTN RFVMREINDR IMKVEYHFLS PYVSPRESPF RHIFWGSGSH TLSALVENLK LRQKNITAFN ETLFRNQLAL ATWTIQGVAN ALSGDIWNID NEF
147	ヒト(Human)BACE1、アイソフォームB	MAQALPWLLL WMGAGVLPAH GTQHGIRLPL RSGLGGAPLG LRLPRETDEE PEEPGRRGSF VEMVDNLRGK SGQGYYVEMT VGSPPQTLNI LVDTGSSNFA VGAAPHPFLH RYYQRQLSST YRDLRKGVYV PYTQGKWEGE LGTDLVSIPH GPNVTVRANI AAITESDKFF INGSNWEGIL

		GLAYAEIARP DDSLEPFFDS LVKQTHVPNL FSLQLCGAGF PLNQSEVLAS VGGSMIIGGI DHSLYTGSLW YTPIRREWYY EVIIVRVEIN GQDLKMDCKE YNYDKSIVDS GTTNLRLPKK VFEAAVKSIK AASSTEKFPD GFWLGEQLVC WQAGTTPWNI FPVISLYLMG EVTNQSFRIT ILPQQYLRPV EDVATSQDDC YKFAISQSST GTVMGAVIME GFYVVFDRAR KRIGFAVSAC HVHDEFRTAA VEGPFVTLDM EDCGYNIPQT DESTLMTIAY VMAAICALFM LPLCLMVCQW CCLRCLRQQH DDFADDISLL K
148	ヒト(Human)BACE1、アイソフォーム A	MAQALPWLLL WMGAGVLPAH GTQHGIRLPL RSGLGGAPLG LRLPRETDEE PEEPGRRGSF VEMVDNLRGK SGQGYYVEMT VGSPPQTLNI LVDTGSSNFA VGAAPHPFLH RYYQRQLSST YRDLRKGVYV PYTQGKWEGE LGTDLVSIPH GPNVTVRANI AAITESDKFF INGSNWEGIL GLAYAEIARL CGAGFPLNQS EVLASVGGSM IIGGIDHSLY TGSLWYTPIR REWYYEVIIV RVEINGQDLK MDCKEYNYDK SIVDSGTTNL RLPKKVFEAA VKSIKAASST EKFPDGFWLG EQLVCWQAGT TPWNIFPVIS LYLMGEVTNQ SFRITILPQQ YLRPVEDVAT SQDDCYKFAI SQSSTGTVMG AVIMEGFYVV FDRARKRIGF AVSACHVHDE FRTAAVEGPF VTLDMEDCGY NIPQTDESTL MTIAYVMAAI CALFMLPLCL MVCQWCCLRC LRQQHDDFAD DISLLK
149	ヒト(Human) BACE1、アイソフォーム C	MAQALPWLLL WMGAGVLPAH GTQHGIRLPL RSGLGGAPLG LRLPRETDEE PEEPGRRGSF VEMVDNLRGK SGQGYYVEMT VGSPPQTLNI LVDTGSSNFA VGAAPHPFLH RYYQRQLSST YRDLRKGVYV PYTQGKWEGE LGTDLPDDSL EPFFDSLVKQ THVPNLFSLQ LCGAGFPLNQ SEVLASVGGS MIIGGIDHSL YTGSLWYTPI RREWYYEVII VRVEINGQDL KMDCKEYNYD KSIVDSGTTN LRLPKKVFEA AVKSIKAASS TEKFPDGFWL GEQLVCWQAG TTPWNIFPVI SLYLMGEVTN QSFRITILPQ QYLRPVEDVA TSQDDCYKFA ISQSSTGTVM GAVIMEGFYV VFDRARKRIG FAVSACHVHD EFRTAAVEGP FVTLDMEDCG YNIPQTDEST LMTIAYVMAA ICALFMLPLC LMVCQWCCLR CLRQQHDDFA

		DDISLLK
150	ヒト(Human)BACE1、アイソフォームD	MAQALPWLLL WMGAGVLPAH GTQHGIRLPL RSGLGGAPLG LRLPRETDEE PEEPGRRGSF VEMVDNLRGK SGQGYYVEMT VGSPPQTLNI LVDTGSSNFA VGAAPHPFLH RYYQRQLSST YRDLRKGVYV PYTQGKWEGE LGTDLLCGAG FPLNQSEVLA SVGGSMIIGG IDHSLYTGSL WYTPIRREWY YEVIIVRVEI NGQDLKMDCK EYNYDKSIVD SGTTNLRLPK KVFEAAVKSI KAASSTEKFP DGFWLGEQLV CWQAGTTPWN IFPVISLYLM GEVTNQSFRI TILPQQYLRP VEDVATSQDD CYKFAISQSS TGTVMGAVIM EGFYVVFDRA RKRIGFAVSA CHVHDEFRTA AVEGPFVTLD MEDCGYNIPQ TDESTLMTIA YVMAAICALF MLPLCLMVCQ WCCLRCLRQQ HDDFADDISL LK
386	マウス(Murine)BACE1、アイソフォーム 1	MAPALHWLLL WVGSGMLPAQ GTHLGIRLPL RSGLAGPPLG LRLPRETDEE SEEPGRRGSF VEMVDNLRGK SGQGYYVEMT VGSPPQTLNI LVDTGSSNFA VGAAPHPFLH RYYQRQLSST YRDLRKGVYV PYTQGKWEGE LGTDLVSIPH GPNVTVRANI AAITESDKFF INGSNWEGIL GLAYAEIARP DDSLEPFFDS LVKQTHIPNI FSLQLCGAGF PLNQTEALAS VGGSMIIGGI DHSLYTGSLW YTPIRREWYY EVIIVRVEIN GQDLKMDCKE YNYDKSIVDS GTTNLRLPKK VFEAAVKSIK AASSTEKFPD GFWLGEQLVC WQAGTTPWNI FPVISLYLMG EVTNQSFRIT ILPQQYLRPV EDVATSQDDC YKFAVSQSST GTVMGAVIME GFYVVFDRAR KRIGFAVSAC HVHDEFRTAA VEGPFVTADM EDCGYNIPQT DESTLMTIAY VMAAICALFM LPLCLMVCQW RCLRCLRHQH DDFADDISLL K
387	マウス(Murine)BACE1、アイソフォーム 2	MAPALHWLLL WVGSGMLPAQ GTHLGIRLPL RSGLAGPPLG LRLPRETDEE SEEPGRRGSF VEMVDNLRGK SGQGYYVEMT VGSPPQTLNI LVDTGSSNFA VGAAPHPFLH RYYQRQLSST YRDLRKGVYV PYTQGKWEGE LGTDLVSIPH GPNVTVRANI AAITESDKFF INGSNWEGIL GLAYAEIARP DDSLEPFFDS LVKQTHIPNI FSLQLCGAGF PLNQTEALAS VGGSMIIGGI DHSLYTGSLW YTPIRREWYY EVIIVRVEIN GQDLKMDCKE TEKFPDGFWL GEQLVCWQAG

		TTPWNIFPVI SLYLMGEVTN QSFRITILPQ QYLRPVEDVA TSQDDCYKFA VSQSSTGTVM GAVIMEGFYV VFDRARKRIG FAVSACHVHD EFRTAAVEGP FVTADMEDCG YNIPQTDEST LMTIAYVMAA ICALFMLPLC LMVCQWRCLR CLRHQHDDFA DDISLLK
388	ヒト(Human) BACE1 ECD	MAQALPWLLL WMGAGVLPAH GTQHGIRLPL RSGLGGAPLG LRLPRETDEE PEEPGRRGSF VEMVDNLRGK SGQGYYVEMT VGSPPQTLNI LVDTGSSNFA VGAAPHPFLH RYYQRQLSST YRDLRKGVYV PYTQGKWEGE LGTDLVSIPH GPNVTVRANI AAITESDKFF INGSNWEGIL GLAYAEIAR PDDSLEPFFD SLVKQTHVPN LFSLQLCGAG FPLNQSEVLA SVGGSMIIGG IDHSLYTGSL WYTPIRREWY YEVIIVRVEI NGQDLKMDCK EYNYDKSIVD SGTTNLRLPK KVFEAAVKSI KAASSTEKFP DGFWLGEQLV CWQAGTTPWN IFPVISLYLM GEVTNQSFRI TILPQQYLRP VEDVATSQDD CYKFAISQSS TGTVMGAVIM EGFYVVFDRA RKRIGFAVSA CHVHDEFRTA AVEGPFVTLD MEDCGYNIPQ TDESTLMTGR A
389	マウス(Murine)BACE1 ECD	MAPALHWLLL WVGSGMLPAQ GTHLGIRLPL RSGLAGPPLG LRLPRETDEE SEEPGRRGSF VEMVDNLRGK SGQGYYVEMT VGSPPQTLNI LVDTGSSNFA VGAAPHPFLH RYYQRQLSST YRDLRKGVY VPYTQGKWEG ELGTDLVSIP HGPNVTVRAN IAAITESDKF FINGSNWEGI LGLAYAEIAR PDDSLEPFFD SLVKQTHIPN IFSLQLCGAG FPLNQTEALA SVGGSMIIGG IDHSLYTGRL WYTPIRREWY YEVIIVRVEI NGQDLKMDCK EYNYDKSIVD SGTTNLRLPK KVFEAAVKSI KAASSTEKFP DGFWLGEQLV CWQAGTTPWN IFPVISLYLM GEVTNQSFRI TILPQQYLRP VEDVATSQDD CYKFAVSQSS TGTVMGAVIM EGFYVVFDRA RKRIGFAVSA CHVHDEFRTA AVEGPFVTAD MEDCGYNIPQ TDESTLMTGR A
329	抗-TfR^{52A}/6266.hIgG1.LALAPG二重特異性抗体抗-TfR重鎖	EVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYTFT SYWMHWVRQA PGQRLEWIGE IAPTNGRTNY IEKFKSRATL TVDKSASTAY MELSSLRSED TAVYYCARGT RAYHYWGQGT MVTVSSASTK GPSVFPLAPS SKSTSGGTAA LGCLVKDYFP

		EPVTVSWNSG ALTSGVHTFP AVLQSSGLYS LSSVVTVPSS SLGTQTYICN VNHKPSNTKV DKKVEPKSCD KTHTCPPCPA PEAAGGPSVF LFPPKPKDTL MISRTPEVTC VVVDVSHEDP EVKFNWYVDG VEVHNAKTKP REEQYNSTYR VVSVLTVLHQ DWLNGKEYKC KVSNKALGAP IEKTISKAKG QPREPQVYTL PPSREEMTKN QVSLSCAVKG FYPSDIAVEW ESNGQPENNY KTTPPVLDSD GSFFLVSKLT VDKSRWQQGN VFSCSVMHEA LHNHYTQKSL SLSPGK
330	抗-TfR^{52A}/6266.hIgG1.LALAPG二重特異性抗体抗-TfR軽鎖	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASDNLY SNLAWYQQKP GKSPKLLVYD ATNLADGVPS RFSGSGSGTD YTLTISSLQP EDFATYYCQH FWGTPLTFGQ GTKVEIKRTV AAPSVFIFPP SDEQLKSGTA SVVCLLNNFY PREAKVQWKV DNALQSGNSQ ESVTEQDSKD STYSLSSTLT LSKADYEKHK VYACEVTHQG LSSPVTKSFN RGEC
331	抗-TfR^{52A}/6266.hIgG1.LALAPG二重特異性抗体抗-BACE1 重鎖	EVQLVQSGAE VKKPGSSVKV SCKASGGTLS GYGVSWVRQA PGQGLEWMGN IIPGFGTANY AQKFQGRVTI TADESTSTAY MELSSLRSED TAVYYCARSG GTKYGMLDVW GQGTMVTVSS ASTKGPSVFP LAPSSKSTSG GTAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV HTFPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSSLGTQT YICNVNHKPS NTKVDKKVEP KSCDKTHTCP PCPAPEAAGG PSVFLFPPKP KDTLMISRTP EVTCVVVDVS HEDPEVKFNW YVDGVEVHNA KTKPREEQYN STYRVVSVLT VLHQDWLNGK EYKCKVSNKA LGAPIEKTIS KAKGQPREPQ VYTLPPSREE MTKNQVSLWC LVKGFYPSDI AVEWESNGQP ENNYKTTPPV LDSDGSFFLY SKLTVDKSRW QQGNVFSCSV MHEALHNHYT QKSLSLSPGK
332	抗-TfR^{52A}/6266.hIgG1.LALAPG二重特異性抗体抗-BACE1軽鎖	EIVMTQSPAT LSVSPGERAT LSCRASQSVS SNLAWYQQKP GQAPRLLIYG ASTRATGIPA RFSGSGSGTE FTLTISSLQS EDFAVYYCQQ LILWPPRTFG GGTKVEIKRT VAAPSVFIFP PSDEQLKSGT ASVVCLLNNF YPREAKVQWK VDNALQSGNS QESVTEQDSK DSTYSLSSTL TLSKADYEKH KVYACEVTHQ GLSSPVTKSF NRGEC

333	抗-TfR^{52A}/6266.hIgG1.LALAPG.YTE二重特異性抗体抗-TfR重鎖	EVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYTFT SYWMHWVRQA PGQRLEWIGE IAPTNGRTNY IEKFKSRATL TVDKSASTAY MELSSLRSED TAVYYCARGT RAYHYWGQGT MVTVSSASTK GPSVFPLAPS SKSTSGGTAA LGCLVKDYFP EPVTVSWNSG ALTSGVHTFP AVLQSSGLYS LSSVVTVPSS SLGTQTYICN VNHKPSNTKV DKKVEPKSCD KTHTCPPCPA PEAAGGPSVF LFPPKPKDTL YITREPEVTC VVVDVSHEDP EVKFNWYVDG VEVHNAKTKP REEQYNSTYR VVSVLTVLHQ DWLNGKEYKC KVSNKALGAP IEKTISKAKG QPREPQVYTL PPSREEMTKN QVSLSCAVKG FYPSDIAVEW ESNGQPENNY KTTPPVLDSD GSFFLVSKLT VDKSRWQQGN VFSCSVMHEA LHNHYTQKSL SLSPGK
334	抗-TfR^{52A}/6266.hIgG1.LALAPG.YTE二重特異性抗体抗-Tfr軽鎖	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASDNLY SNLAWYQQKP GKSPKLLVYD ATNLADGVPS RFSGSGSGTD YTLTISSLQP EDFATYYCQH FWGTPLTFGQ GTKVEIKRTV AAPSVFIFPP SDEQLKSGTA SVVCLLNNFY PREAKVQWKV DNALQSGNSQ ESVTEQDSKD STYSLSSTLT LSKADYEKHK VYACEVTHQG LSSPVTKSFN RGEC
335	抗-TfR^{52A}/6266.hIgG1.LALAPG.YTE二重特異性抗体抗-BACE1重鎖	EVQLVQSGAE VKKPGSSVKV SCKASGGTLS GYGVSWVRQA PGQGLEWMGN IIPGFGTANY AQKFQGRVTI TADESTSTAY MELSSLRSED TAVYYCARSG GTKYGMLDVW GQGTMVTVSS ASTKGPSVFP LAPSSKSTSG GTAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV HTFPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSSLGTQT YICNVNHKPS NTKVDKKVEP KSCDKTHTCP PCPAPEAAGG PSVFLFPPKP KDTLYITREP EVTCVVVDVS HEDPEVKFNW YVDGVEVHNA KTKPREEQYN STYRVVSVLT VLHQDWLNGK EYKCKVSNKA LGAPIEKTIS KAKGQPREPQ VYTLPPSREE MTKNQVSLWC LVKGFYPSDI AVEWESNGQP ENNYKTTPPV LDSDGSFFLY SKLTVDKSRW QQGNVFSCSV MHEALHNHYT QKSLSLSPGK
336	抗-TfR^{52A}/6266.hIgG1.LALAPG.YTE二重特異	EIVMTQSPAT LSVSPGERAT LSCRASQSVS SNLAWYQQKP GQAPRLLIYG ASTRATGIPA RFSGSGSGTE FTLTISSLQS EDFAVYYCQQ

	性抗体抗-BACE1軽鎖	LILWPPRTFG GGTKVEIKRT VAAPSVFIFP PSDEQLKSGT ASVVCLLNNF YPREAKVQWK VDNALQSGNS QESVTEQDSK DSTYSLSSTL TLSKADYEKH KVYACEVTHQ GLSSPVTKSF NRGEC
337	抗-TfR^2/6266.hIgG1.LALAPG二重特異性抗体抗-TfR重鎖	EVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYTFT SYWMHWVRQA PGQRLEWIGE INPTNGRTNY IEKFKSRATL TVDKSASTAY MELSSLRSED TAVYYCARGT RAYHYWGQGT MVTVSSASTK GPSVFPLAPS SKSTSGGTAA LGCLVKDYFP EPVTVSWNSG ALTSGVHTFP AVLQSSGLYS LSSVVTVPSS SLGTQTYICN VNHKPSNTKV DKKVEPKSCD KTHTCPPCPA PEAAGGPSVF LFPPKPKDTL MISRTPEVTC VVVDVSHEDP EVKFNWYVDG VEVHNAKTKP REEQYNSTYR VVSVLTVLHQ DWLNGKEYKC KVSNKALGAP IEKTISKAKG QPREPQVYTL PPSREEMTKN QVSLSCAVKG FYPSDIAVEW ESNGQPENNY KTTPPVLDSD GSFFLVSKLT VDKSRWQQGN VFSCSVMHEA LHNHYTQKSL SLSPGK
338	抗-TfR^2/6266.hIgG1.LALAPG二重特異性抗体抗-TfR軽鎖	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASDNLY SNLAWYQQKP GKSPKLLVYD ATNLADGVPS RFSGSGSGTD YTLTISSLQP EDFATYYCQH FAGTPLTFGQ GTKVEIKRTV AAPSVFIFPP SDEQLKSGTA SVVCLLNNFY PREAKVQWKV DNALQSGNSQ ESVTEQDSKD STYSLSSTLT LSKADYEKHK VYACEVTHQG LSSPVTKSFN RGEC
339	抗-TfR^2/6266.hIgG1.LALAPG二重特異性抗体抗-BACE1重鎖	EVQLVQSGAE VKKPGSSVKV SCKASGGTLS GYGVSWVRQA PGQGLEWMGN IIPGFGTANY AQKFQGRVTI TADESTSTAY MELSSLRSED TAVYYCARSG GTKYGMLDVW GQGTMVTVSS ASTKGPSVFP LAPSSKSTSG GTAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV HTFPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSSLGTQT YICNVNHKPS NTKVDKKVEP KSCDKTHTCP PCPAPEAAGG PSVFLFPPKP KDTLMISRTP EVTCVVVDVS HEDPEVKFNW YVDGVEVHNA KTKPREEQYN STYRVVSVLT VLHQDWLNGK EYKCKVSNKA LGAPIEKTIS KAKGQPREPQ VYTLPPSREE MTKNQVSLWC LVKGFYPSDI AVEWESNGQP ENNYKTTPPV LDSDGSFFLY SKLTVDKSRW

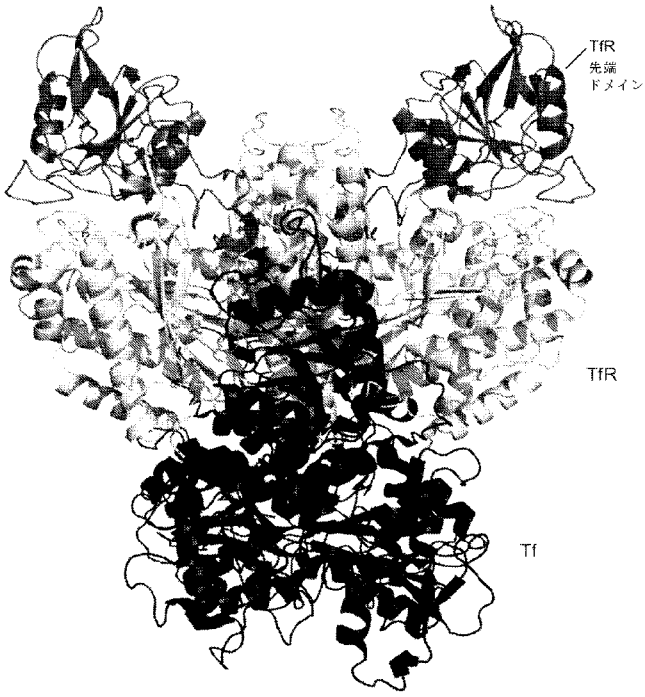
		QQGNVFSCSV MHEALHNHYT QKSLSLSPGK
340	抗-TfR^2/6266.hIgG1.LALAPG二重特異性抗体抗-BACE1軽鎖	EIVMTQSPAT LSVSPGERAT LSCRASQSVS SNLAWYQQKP GQAPRLLIYG ASTRATGIPA RFSGSGSGTE FTLTISSLQS EDFAVYYCQQ LILWPPRTFG GGTKVEIKRT VAAPSVFIFP PSDEQLKSGT ASVVCLLNNF YPREAKVQWK VDNALQSGNS QESVTEQDSK DSTYSLSSTL TLSKADYEKH KVYACEVTHQ GLSSPVTKSF NRGEC
341	抗-TfR^2/6266.hIgG1.LALAPG.YTE二重特異性抗体抗-TfR重鎖	EVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYTFT SYWMHWVRQA PGQRLEWIGE INPTNGRTNY IEKFKSRATL TVDKSASTAY MELSSLRSED TAVYYCARGT RAYHYWGQGT MVTVSSASTK GPSVFPLAPS SKSTSGGTAA LGCLVKDYFP EPVTVSWNSG ALTSGVHTFP AVLQSSGLYS LSSVVTVPSS SLGTQTYICN VNHKPSNTKV DKKVEPKSCD KTHTCPPCPA PEAAGGPSVF LFPPKPKDTL YITREPEVTC VVVDVSHEDP EVKFNWYVDG VEVHNAKTKP REEQYNSTYR VVSVLTVLHQ DWLNGKEYKC KVSNKALGAP IEKTISKAKG QPREPQVYTL PPSREEMTKN QVSLSCAVKG FYPSDIAVEW ESNGQPENNY KTTPPVLDSD GSFFLVSKLT VDKSRWQQGN VFSCSVMHEA LHNHYTQKSL SLSPGK
394	抗-TfR^2/6266.hIgG1.LALAPG.YTE. M108L二重特異性抗体抗-TfR重鎖	EVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYTFT SYWMHWVRQA PGQRLEWIGE INPTNGRTNY IEKFKSRATL TVDKSASTAY MELSSLRSED TAVYYCARGT RAYHYWGQGT LVTVSSASTK GPSVFPLAPS SKSTSGGTAA LGCLVKDYFP EPVTVSWNSG ALTSGVHTFP AVLQSSGLYS LSSVVTVPSS SLGTQTYICN VNHKPSNTKV DKKVEPKSCD KTHTCPPCPA PEAAGGPSVF LFPPKPKDTL YITREPEVTC VVVDVSHEDP EVKFNWYVDG VEVHNAKTKP REEQYNSTYR VVSVLTVLHQ DWLNGKEYKC KVSNKALGAP IEKTISKAKG QPREPQVYTL PPSREEMTKN QVSLSCAVKG FYPSDIAVEW ESNGQPENNY KTTPPVLDSD GSFFLVSKLT VDKSRWQQGN VFSCSVMHEA LHNHYTQKSL SLSPGK
342	抗	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASDNLY

	-TfR^2/6266.hIgG1.LALAPG.YTE二重特異性抗体抗-TfR軽鎖	SNLAWYQQKP GKSPKLLVYD ATNLADGVPS RFSGSGSGTD YTLTISSLQP EDFATYYCQH FAGTPLTFGQ GTKVEIKRTV AAPSVFIFPP SDEQLKSGTA SVVCLLNNFY PREAKVQWKV DNALQSGNSQ ESVTEQDSKD STYSLSSTLT LSKADYEKHK VYACEVTHQG LSSPVTKSFN RGEC
343	抗-TfR^2/6266.hIgG1.LALAPG.YTE二重特異性抗体抗-BACE1重鎖	EVQLVQSGAE VKKPGSSVKV SCKASGGTLS GYGVSWVRQA PGQGLEWMGN IIPGFGTANY AQKFQGRVTI TADESTSTAY MELSSLRSED TAVYYCARSG GTKYGMLDVW GQGTMVTVSS ASTKGPSVFP LAPSSKSTSG GTAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV HTFPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSSLGTQT YICNVNHKPS NTKVDKKVEP KSCDKTHTCP PCPAPEAAGG PSVFLFPPKP KDTLYITREP EVTCVVVDVS HEDPEVKFNW YVDGVEVHNA KTKPREEQYN STYRVVSVLT VLHQDWLNGK EYKCKVSNKA LGAPIEKTIS KAKGQPREPQ VYTLPPSREE MTKNQVSLWC LVKGFYPSDI AVEWESNGQP ENNYKTTPPV LDSDGSFFLY SKLTVDKSRW QQGNVFSCSV MHEALHNHYT QKSLSLSPGK
344	抗-TfR^2/6266.hIgG1.LALAPG.YTE 二重特異性抗体抗-BACE1軽鎖	EIVMTQSPAT LSVSPGERAT LSCRASQSVS SNLAWYQQKP GQAPRLLIYG ASTRATGIPA RFSGSGSGTE FTLTISSLQS EDFAVYYCQQ LILWPPRTFG GGTKVEIKRT VAAPSVFIFP PSDEQLKSGT ASVVCLLNNF YPREAKVQWK VDNALQSGNS QESVTEQDSK DSTYSLSSTL TLSKADYEKH KVYACEVTHQ GLSSPVTKSF NRGEC
395	抗-TfR^{52A} M108L重鎖可変領域	EVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYTFT SYWMHWVRQA PGQRLEWIGE IAPTNGRTNY IEKFKSRATL TVDKSASTAY MELSSLRSED TAVYYCARGT RAYHYWGQGT LVTVSS
396	抗-TfR^2 M108L重鎖可変領域	EVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYTFT SYWMHWVRQA PGQRLEWIGE INPTNGRTNY IEKFKSRATL TVDKSASTAY MELSSLRSED TAVYYCARGT RAYHYWGQGT LVTVSS
397	抗-TfR^{52A}軽鎖可変領域	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASDNLY SNLAWYQQKP GKSPKLLVYD ATNLADGVPS

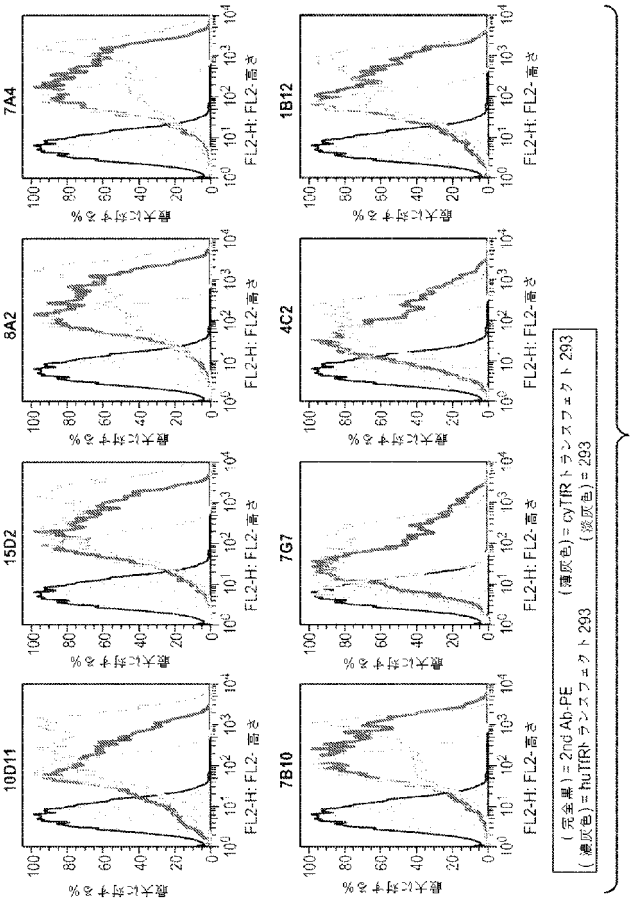
		RFSGSGSGTD YTLTISSLQP EDFATYYCQH FWGTPLTFGQ GTKVEIK
398	抗-TfR^2 軽鎖可変領域	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASDNLY SNLAWYQQKP GKSPKLLVYD ATNLADGVPS RFSGSGSGTD YTLTISSLQP EDFATYYCQH FAGTPLTFGQ GTKVEIK
399	抗-BACE1 6266重鎖可変領域	EVQLVQSGAE VKKPGSSVKV SCKASGGTLS GYGVSWVRQA PGQGLEWMGN IIPGFGTANY AQKFQGRVTI TADESTSTAY MELSSLRSED TAVYYCARSG GTKYGMLDVW GQGTMVTVSS
400	抗-BACE1 6266軽鎖可変領域	EIVMTQSPAT LSVSPGERAT LSCRASQSVS SNLAWYQQKP GQAPRLLIYG ASTRATGIPA RFSGSGSGTE FTLTISSLQS EDFAVYYCQQ LILWPPRTFG GGTKVEIK
375	6266.3、6266.6、6266.7、6266.8、6266.11のVL HVR2	GASTRAY
376	6266.1、6266.2、6266.3、6266.4、6266.5、6266.6、6266.7のVH HVR1	GTLSHYGVS
377	6266.1、6266.2、6266.3、6266.4、6266.5、6266.6、6266.7のVH HVR2	NIIPGIGTANYAQKFQG
378	6266.5, 6266.6でのVH HVR3	ARSGGTQYGMLDV
379	6266.7, 6266.15でのVH HVR3	ARSGGTKYGELDV
380	6266.8, 6266.9でのVH HVR1	GTLKGYGVS
381	6266.12でのVH HVR1	GTLNGYGVS
382	6266.13でのVH HVR1	GTLSGYGMS
383	6266.14でのVH HVR2	NIIPGFGVANYAQKFQG
384	6266.8, 6266.9でのVH HVR3	ARGGGTKYGMLDV
385	6266.14でのVH HVR3	ARSGGTKWGMLDV
390	T366S、L368A及びY407V「ホール」変異をもつhIgG1.LALAPG定常領域	ASTKGPSVFP LAPSSKSTSG GTAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV HTFPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSSLGTQT YICNVNHKPS NTKVDKKVEP KSCDKTHTCP PCPAPEAAGG PSVFLFPPKP KDTLMISRTP EVTCVVVDVS

		HEDPEVKFNW YVDGVEVHNA KTKPREEQYN STYRVVSVLT VLHQDWLNGK EYKCKVSNKA LGAPIEKTIS KAKGQPREPQ VYTLPPSREE MTKNQVSLSC AVKGFYPSDI AVEWESNGQP ENNYKTTPPV LDSDGSFFLV SKLTVDKSRW QQGNVFSCSV MHEALHNHYT QKSLSLSPGK
391	T366W「ノブ」変異をもつhIgG1.LALAPG定常領域	ASTKGPSVFP LAPSSKSTSG GTAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV HTFPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSSLGTQT YICNVNHKPS NTKVDKKVEP KSCDKTHTCP PCPAPEAAGG PSVFLFPPKP KDTLMISRTP EVTCVVVDVS HEDPEVKFNW YVDGVEVHNA KTKPREEQYN STYRVVSVLT VLHQDWLNGK EYKCKVSNKA LGAPIEKTIS KAKGQPREPQ VYTLPPSREE MTKNQVSLWC LVKGFYPSDI AVEWESNGQP ENNYKTTPPV LDSDGSFFLY SKLTVDKSRW QQGNVFSCSV MHEALHNHYT QKSLSLSPGK
392	T366S、L368A及びY407V「ホール」変異をもつhIgG1.LALAPG.YTE定常領域	ASTKGPSVFP LAPSSKSTSG GTAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV HTFPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSSLGTQT YICNVNHKPS NTKVDKKVEP KSCDKTHTCP PCPAPEAAGG PSVFLFPPKP KDTLYITREP EVTCVVVDVS HEDPEVKFNW YVDGVEVHNA KTKPREEQYN STYRVVSVLT VLHQDWLNGK EYKCKVSNKA LGAPIEKTIS KAKGQPREPQ VYTLPPSREE MTKNQVSLSC AVKGFYPSDI AVEWESNGQP ENNYKTTPPV LDSDGSFFLV SKLTVDKSRW QQGNVFSCSV MHEALHNHYT QKSLSLSPGK
393	T366W「ノブ」変異をもつhIgG1.LALAPG.YTE定常領域	ASTKGPSVFP LAPSSKSTSG GTAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV HTFPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSSLGTQT YICNVNHKPS NTKVDKKVEP KSCDKTHTCP PCPAPEAAGG PSVFLFPPKP KDTLYITREP EVTCVVVDVS HEDPEVKFNW YVDGVEVHNA KTKPREEQYN STYRVVSVLT VLHQDWLNGK EYKCKVSNKA LGAPIEKTIS KAKGQPREPQ VYTLPPSREE MTKNQVSLWC LVKGFYPSDI AVEWESNGQP ENNYKTTPPV LDSDGSFFLY SKLTVDKSRW QQGNVFSCSV MHEALHNHYT QKSLSLSPGK

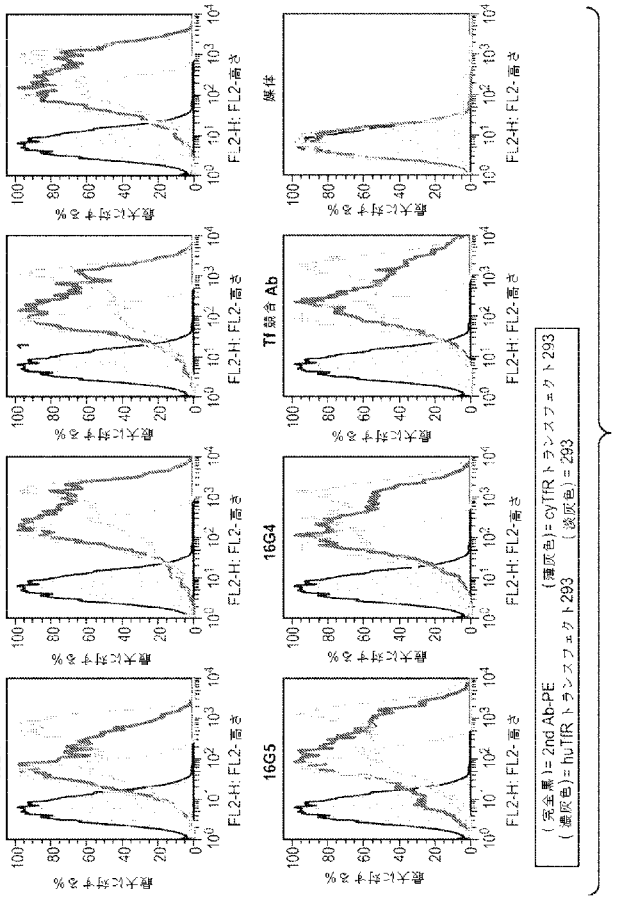
【図１】



【図２Ａ】



【図２Ｂ】

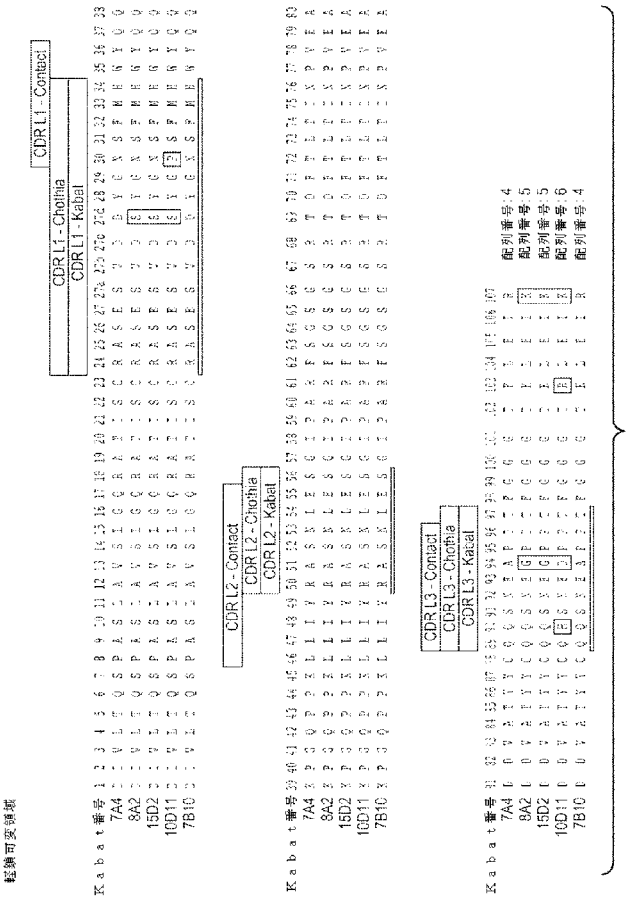


【図２Ｃ】

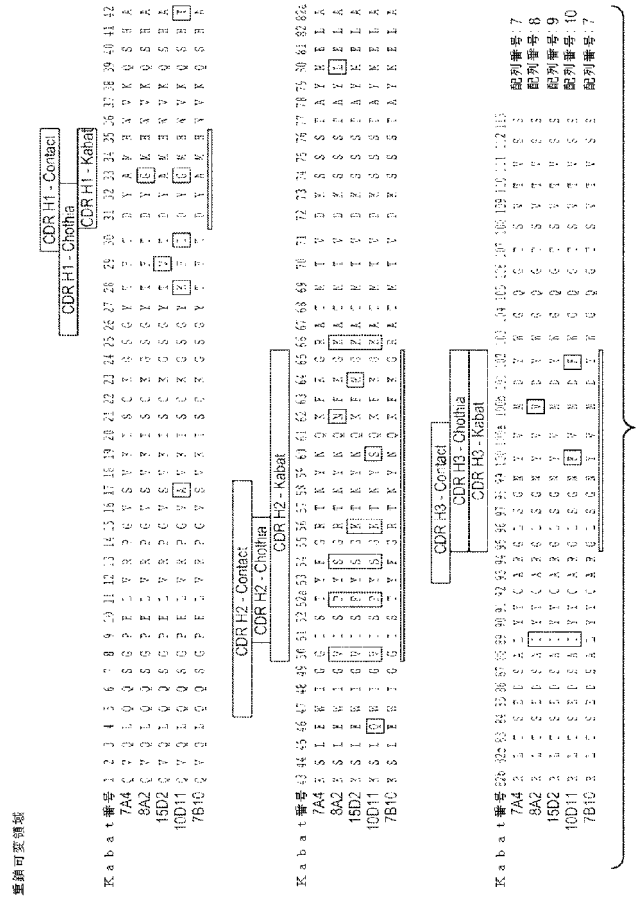
ヒト及びカニクイザル交差反応性のＴｆＲへのＴｆ
結合と競合しない抗ＴｆＲハイブリドーマの特性化

		先端ドメイン結合剤との競合	huTfR ELISA 結合	Cyno TfR ELISA 結合	ハイブリドーマ又はキメラＩｇＧ結合のＢｉａｃｏｒｅ						
					huTfR			CynoTfR			C y/h u KD比
					Ka	Kd	KD	Ka	Kd	KD	
クラスＩ	7A4	+++	+++	+++	2.11E+06	4.34E-04	2.06E-10	1.06E+06	6.63E-04	6.27E-10	3.04
	8A2	+++	+++	+++	1.22E+06	2.17E-04	1.79E-10	7.91E+05	7.13E-04	9.04E-10	5.06
	7A4 HC/8A2 LC	+++	+++	+++	3.01E+06	3.35E-04	1.12E-10	1.32E+06	1.22E-03	9.25E-10	8.29
	15G2	+++	+++	+++							
	10D11	+++	+++	+++	1.66E+05	3.44E-04	2.08E-09	6.46E+04	5.81E-03	8.99E-08	43.32
	7B10	+++	+++	+++							
	15G11	+++	+++	+++	8.90E+05	8.63E-04	9.92E-10	1.29E+06	3.35E-03	2.60E-09	2.62
クラスII	13C3	+++	+++	+++							
	16G5	+++	+++	+++							
	16G4	+++	+++	+++	4.77E+05	1.62E-03	3.40E-09	2.33E+05	5.23E-03	2.24E-08	6.59
クラスIII	16F6	+++	+++	+++	1.36E+05	2.81E-04	2.07E-09	1.23E+05	9.13E-04	7.45E-09	3.6
クラスIV	7G7	-	+++	+++	1.33E+05	6.08E-03	4.57E-08	4.63E+04	1.21E-02	2.62E-07	5.73E
	4C2	-	+++	+++							
	1B12	-	+++	++	1.36E+05	2.76E-04	2.03E-09	1.34E+05	5.80E-03	4.34E-08	21.35
	13D4	-	+++	++	9.99E+04	9.49E-04	9.50E-09	7.06E+04	5.98E-04	8.47E-09	0.89

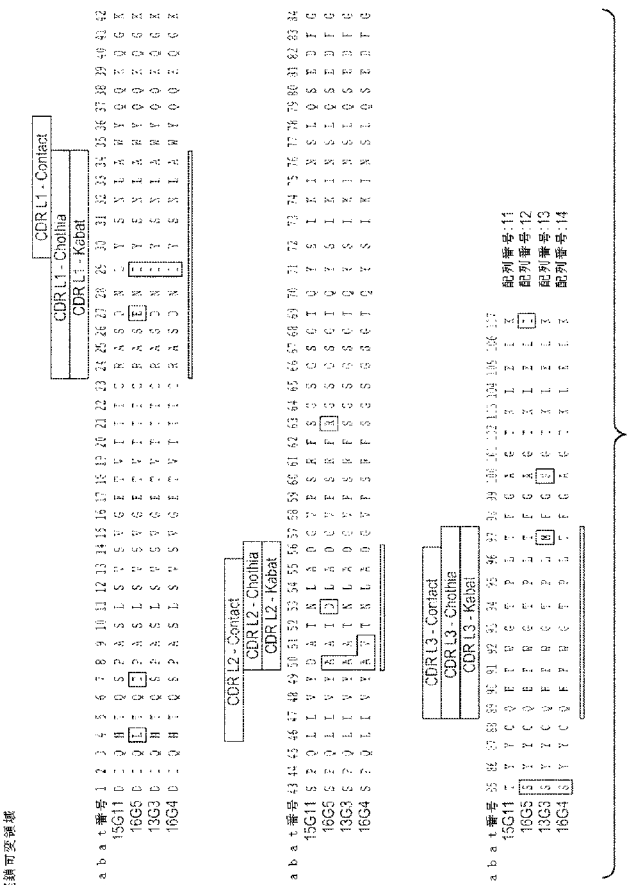
【図３Ａ－１】



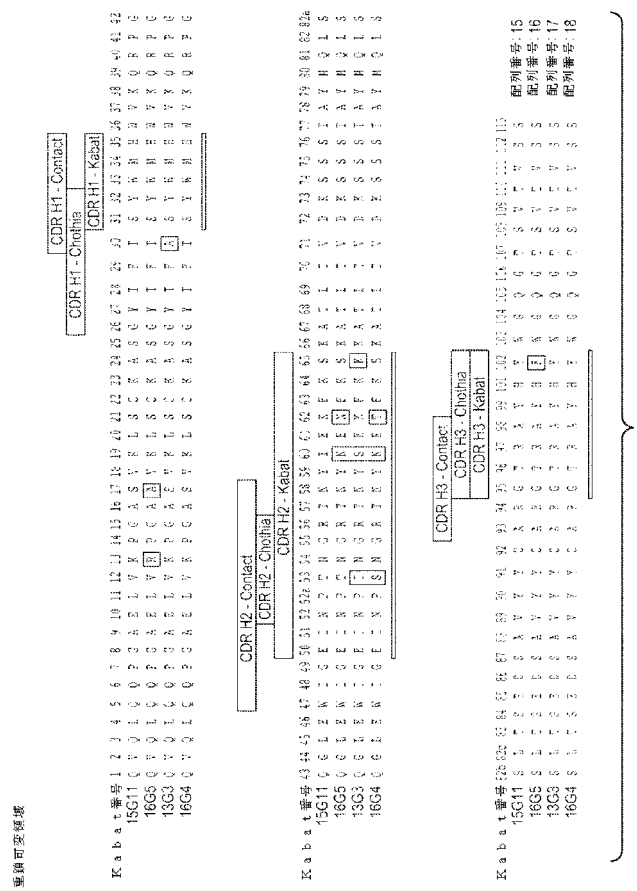
【図３Ａ－２】



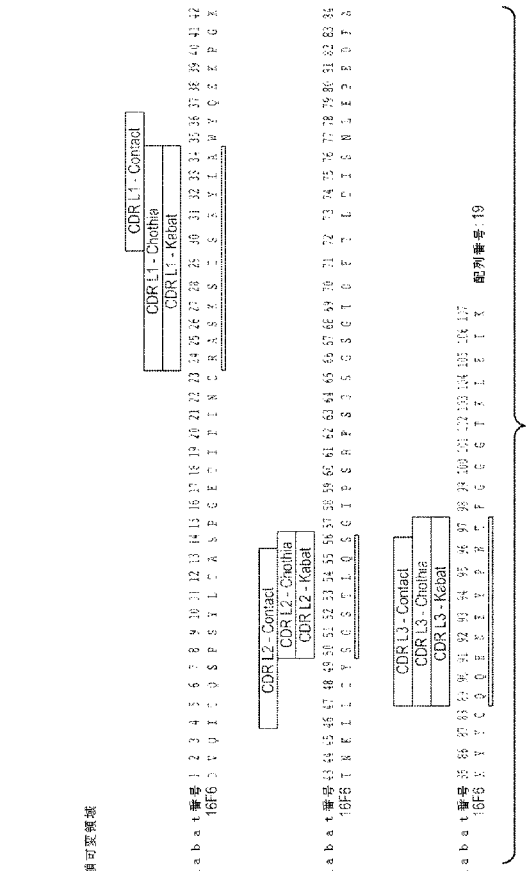
【図３Ｂ－１】



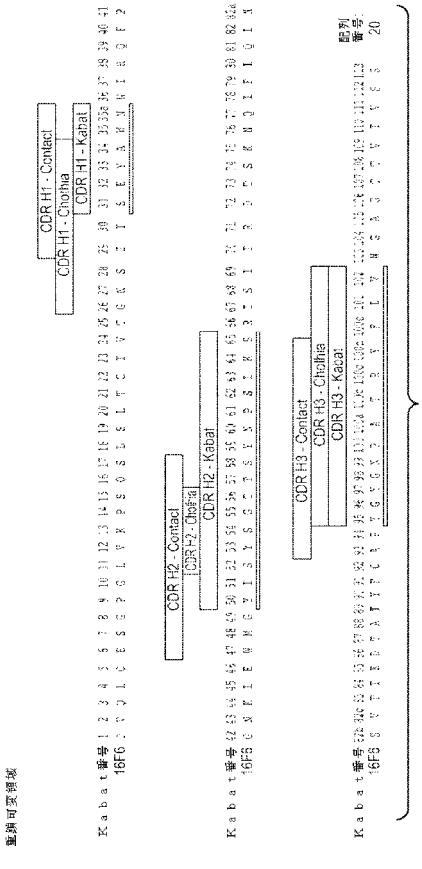
【図３Ｂ－２】



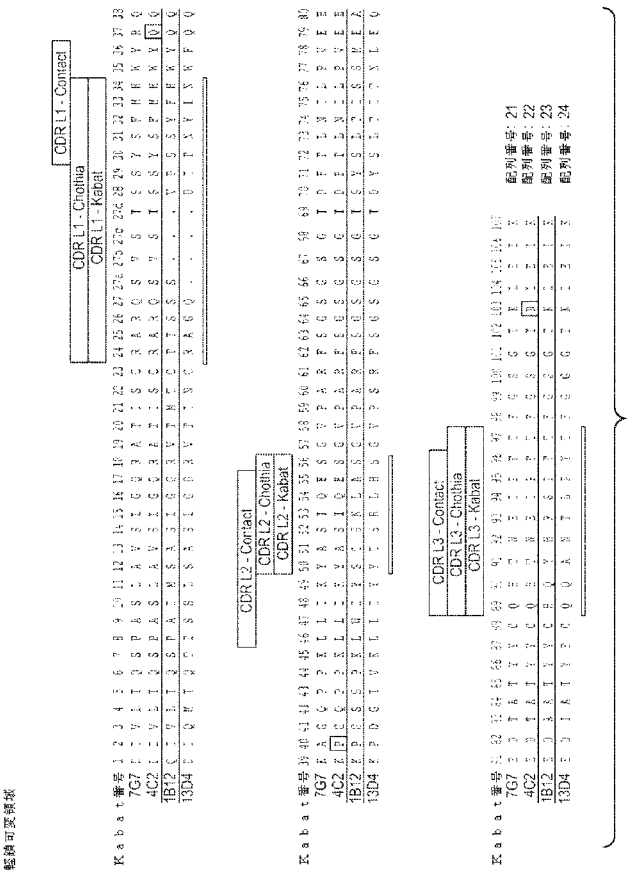
【図３Ｃ－１】



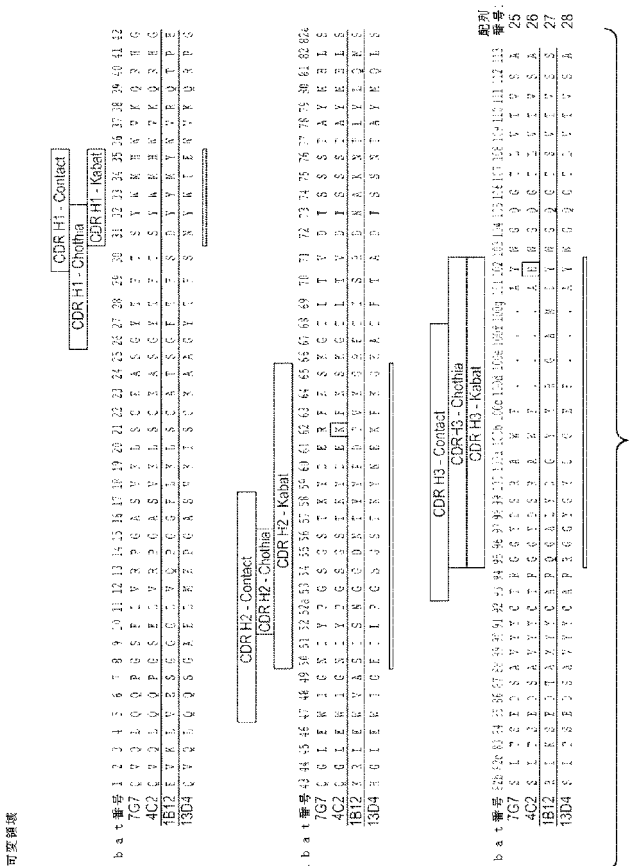
【図３Ｃ－２】



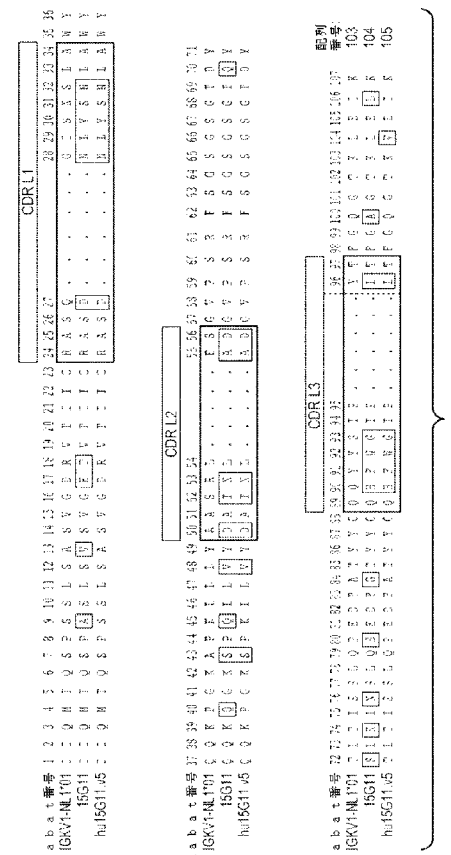
【図３Ｄ－１】



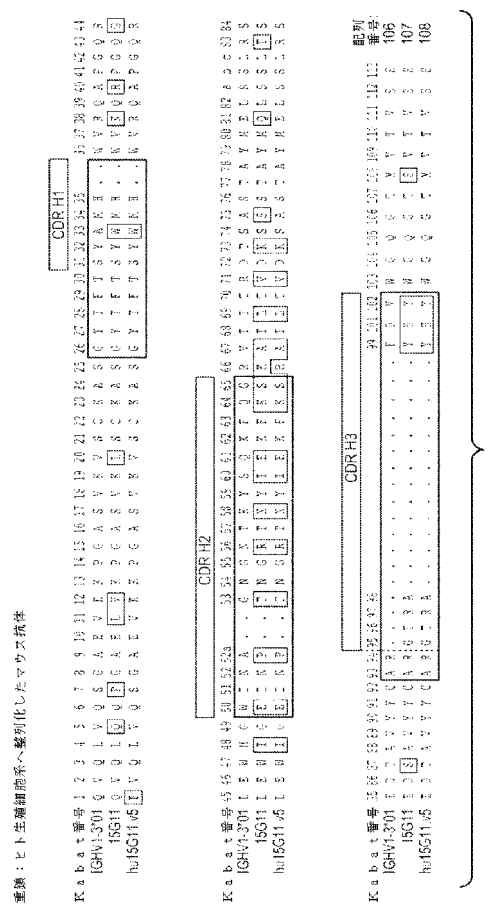
【図３Ｄ－２】



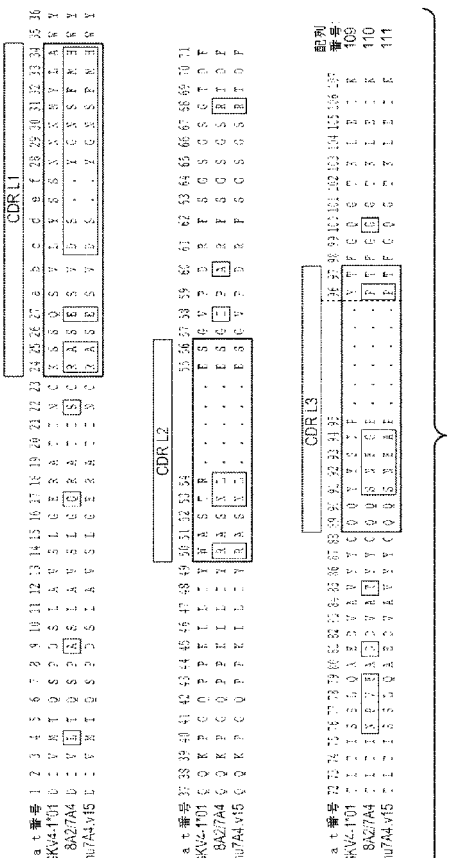
【図４Ａ－１】



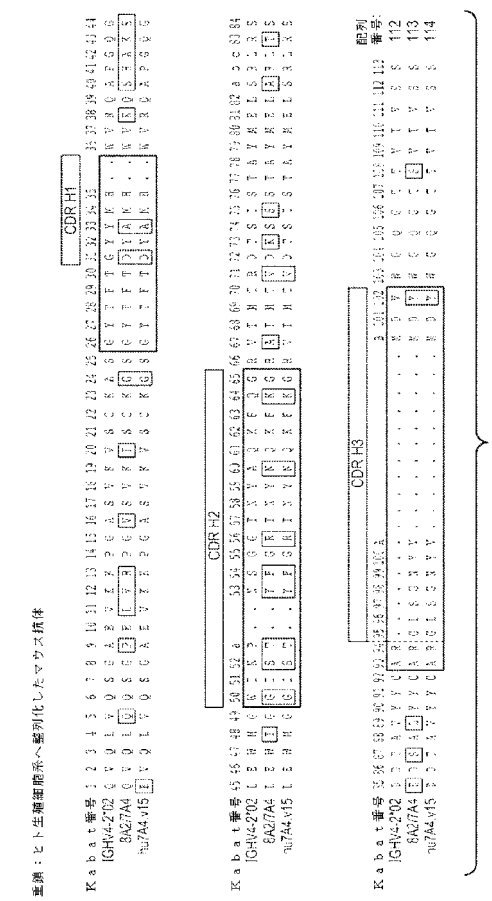
【図４Ａ－２】



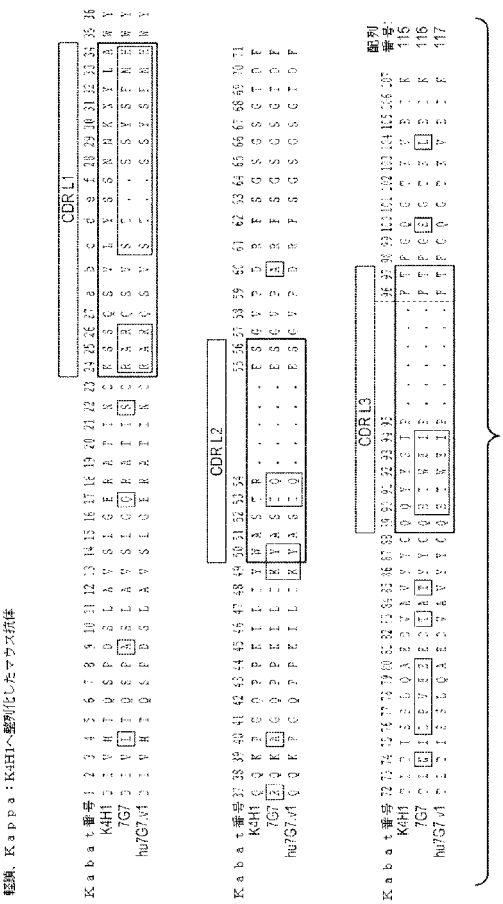
【図４Ｂ－１】



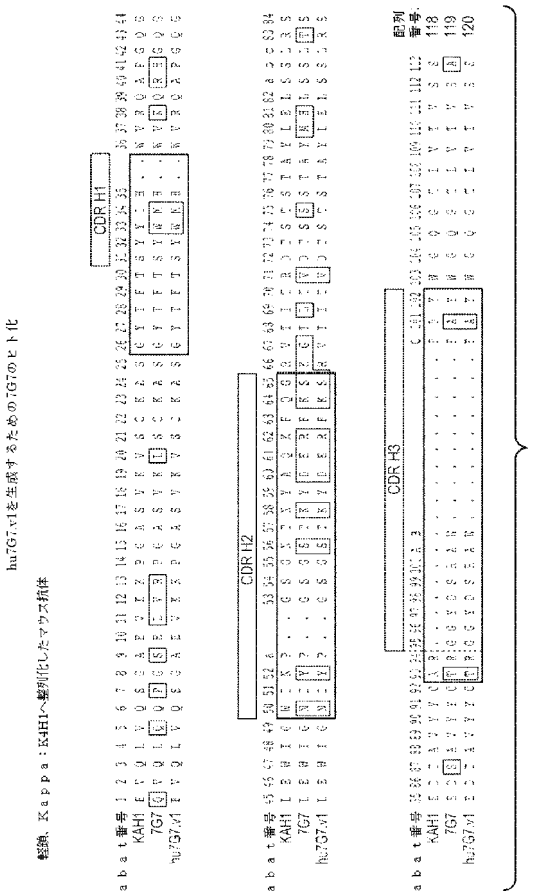
【図４Ｂ－２】



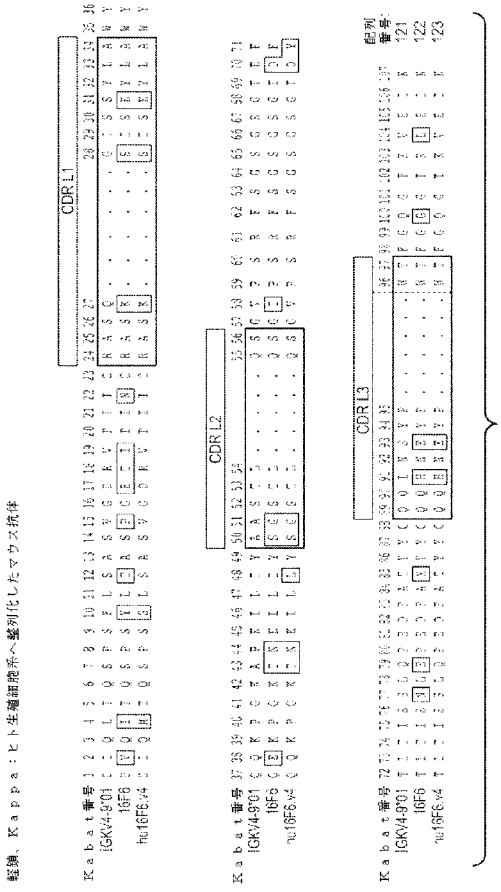
【図４Ｃ－１】



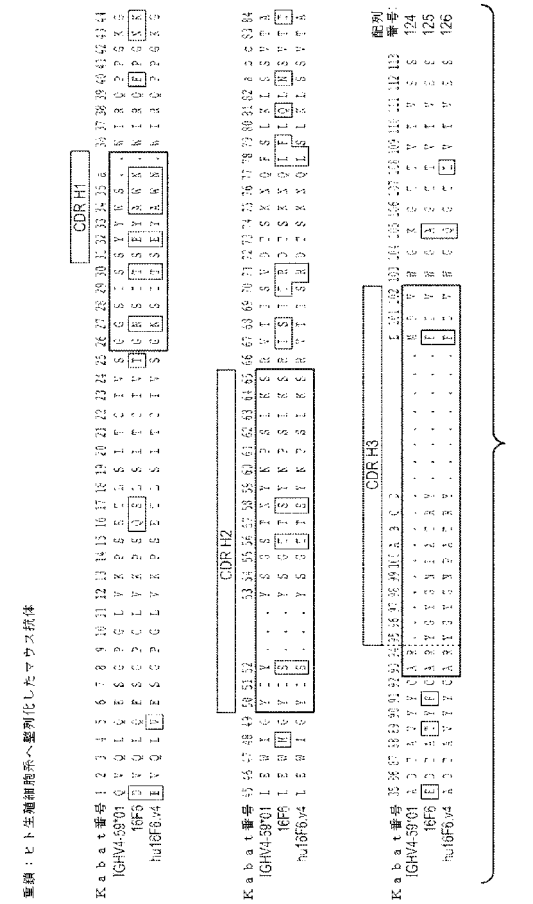
【図４Ｃ－２】



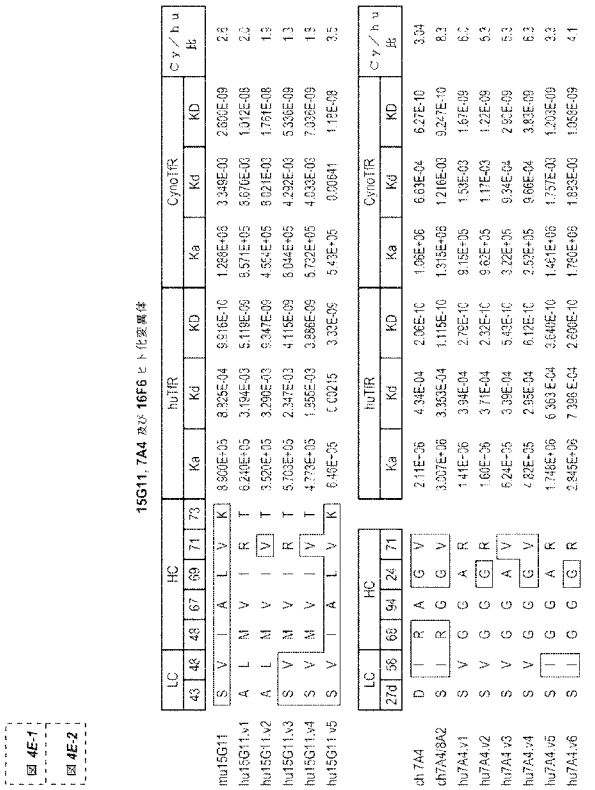
【図４Ｄ－１】



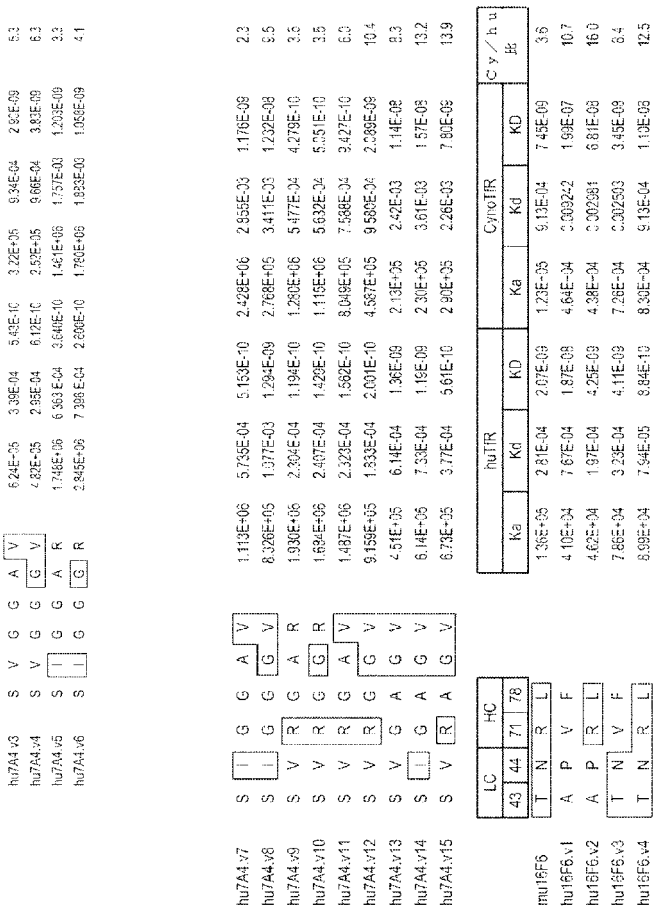
【図４Ｄ－２】



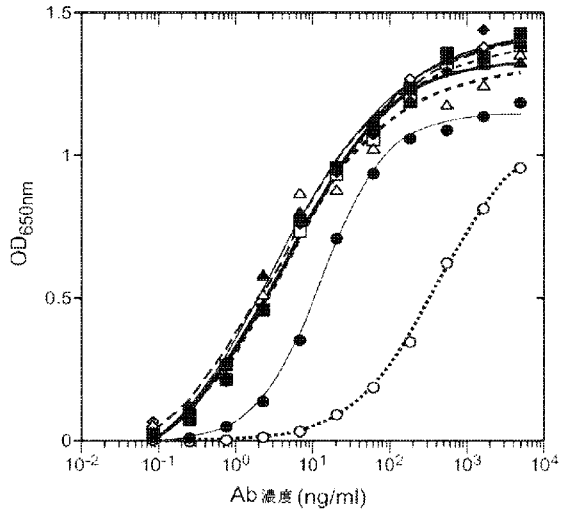
【図４Ｅ－１】



【図４Ｅ－２】



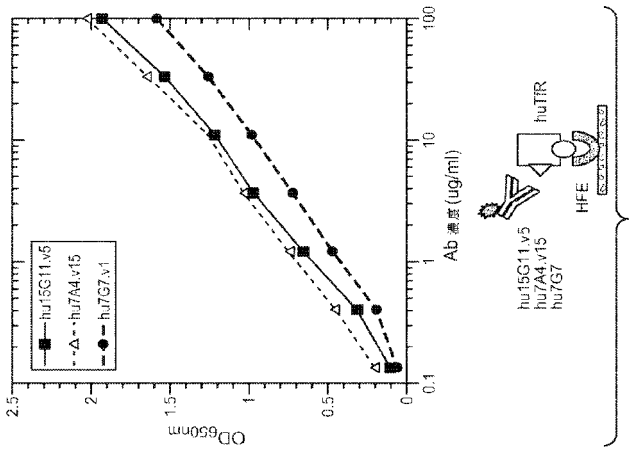
【図５】



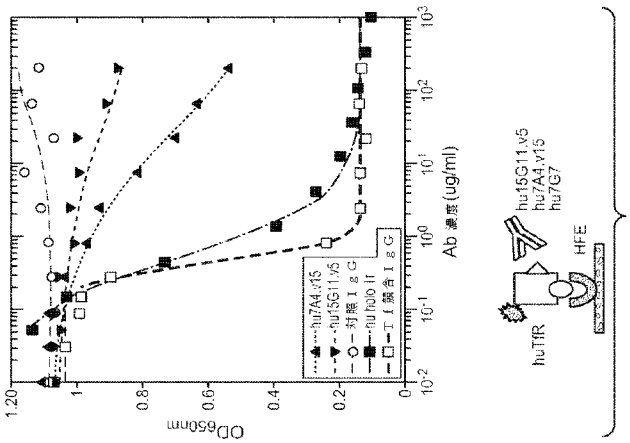
６．３μMのホロ－Ｔｆの存在（広間隔の破線、破線）又は不在下（太線、実線）での抗体結合

hu7A4.v15 - 四角
hu15G11.v5 - 菱形
hu7G7.v1 - 三角
Ｔｆ競合抗体 - 丸

【図６Ａ】



【図６Ｂ】



【図７Ａ】

15G11 変異体 I g G			ELIZA (EC50) huTfR (ng/ml)	ELIZA (EC50) CynoTfR (ng/ml)	Biacore (SCK) 1:1 fit (IgG) huTfR (nM)	Biacore (SCK) 1:1 fit (IgG) CynoTfR (nM)	Biacore Steady State (IgG) huTfR (nM)	Biacore Steady State (IgG) CynoTfR (nM)	Biacore (Fab) huTfR (nM)	Biacore (Fab) CynoTfR (nM)
15G11.v5			16± 1	20± 2	3.3	12			4.7	16
	T96A		274	3378	173		433			
	V99A		16.1	21.8						
CDR-H3	H101A		14.2	21.6						
	V102A		15.7	22.3						
	Q89A		30	506	125	268	212	591		
	H90A		13	24						
	F91A		45.8	953.3	167 ± 69		228 ± 152		383	370
	W92A		11.8	44.1	31	32	123	327	280	1300
	G93A		14.5	50.8	40	61	150	412	245	
CDR-L3	T94A		16.8	29.3						
	P95A		10.6	40.6	29	57	94	258	170	886
	L96A		9.9	18						
	T97A		13.4	15.7						

CDR L3

	89	90	91	92	93	94	95	96	97	配列番号:
	Q	H	F	W	G	T	P	L	T	128

CDR H3

	95	96	97	98	99	100	100a	100b	101	102	配列番号:
	G	T	R	A	Y	H	Y				129

【図７Ｂ】

7A4 変異体 I g G			ELIZA (EC50) I g G 使用 huTfR (ng/ml)	ELIZA (EC50) I g G 使用 CynoTfR (ng/ml)	Biacore (SCK) 1:1 fit (IgG) huTfR (nM)	Biacore (SCK) 1:1 fit (IgG) CynoTfR (nM)	Biacore Steady State (IgG) huTfR (nM)	Biacore Steady State (IgG) CynoTfR (nM)	Biacore (Fab) huTfR (nM)	Biacore (Fab) CynoTfR (nM)
7A4.v15			14.8	14.2	0.58	7.8			0.4	4.3
	G55A		13.5	41.8						
	L96A		15.5	28.7						
CDR-H3	S97A									
	G98A		19.4	24.7						
	N99A		17	82.2	11	22	19	77		
	Y100A		15.9	24						
	Y100aA									
	M100bA		16.1	16.9						
	D101A		17.3	18.5						
	Y102A		12.6	17.8						
	Q89A		10.9	13.8						
	Q90A		9.3	181	16	570	41	329	139	760
	S91A		11.3	16.3						
	N92A		8.7	13.7						
CDR-L3	E93A		12.2	17.6						
	P95A		9.7	15.9						
	P96A		10	16.2						
	T97A		12	22.6						

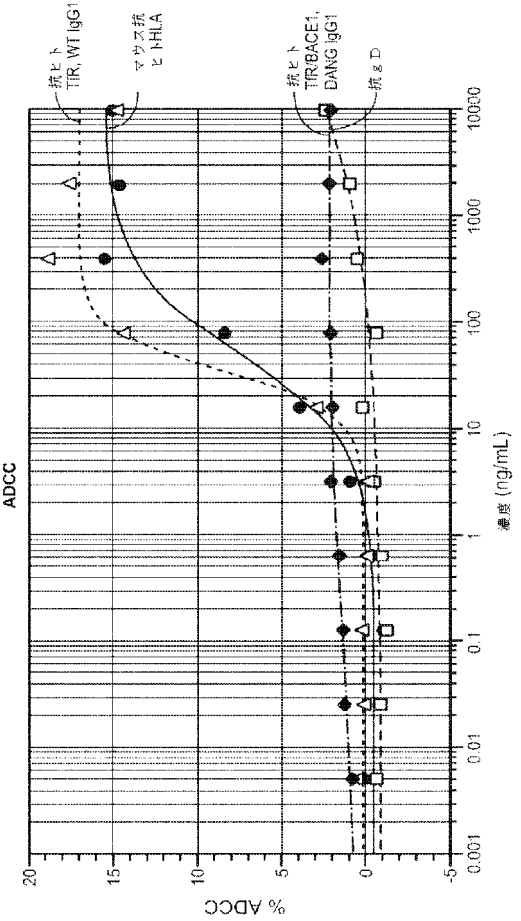
CDR L3

	89	90	91	92	93	94	95	96	97	配列番号:
	Q	Q	S	N	E	A	P	P	T	130

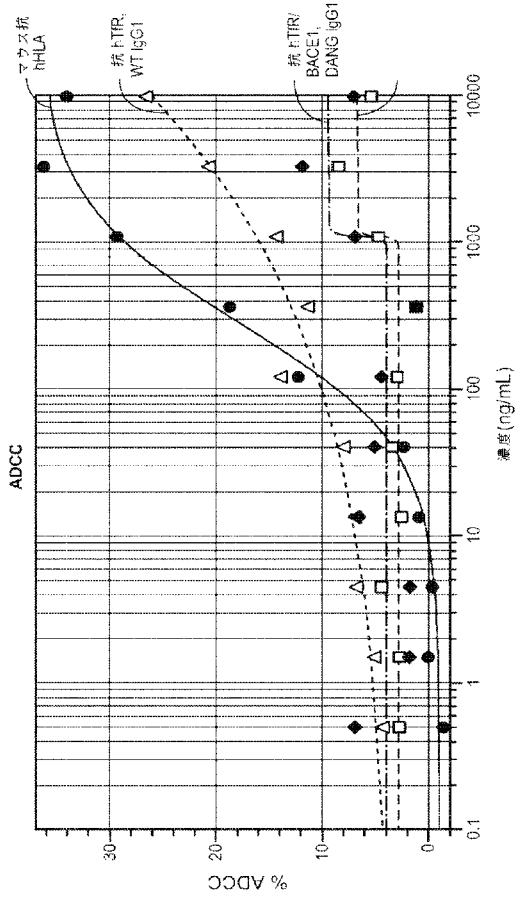
CDR H3

	95	96	97	98	99	100	100a	100b	101	102	配列番号:
	G	L	S	G	N	Y	V	M	D	Y	131

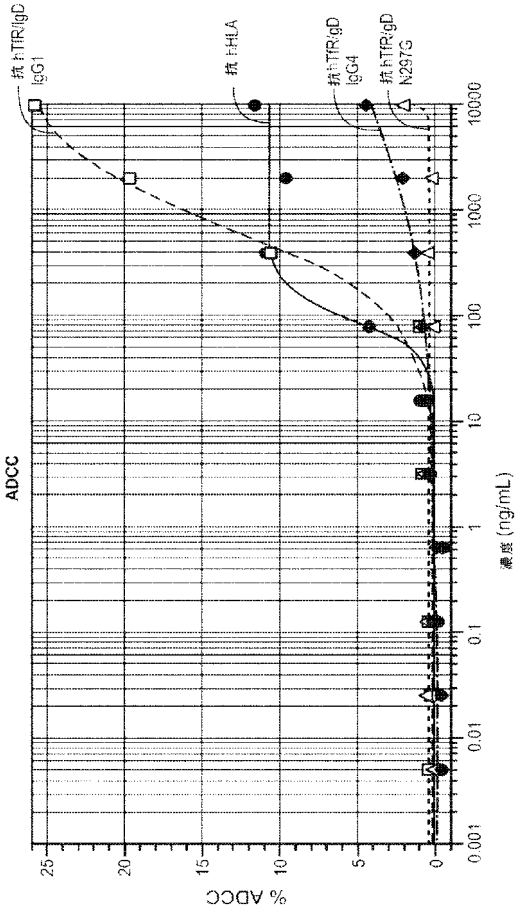
【図８Ａ】



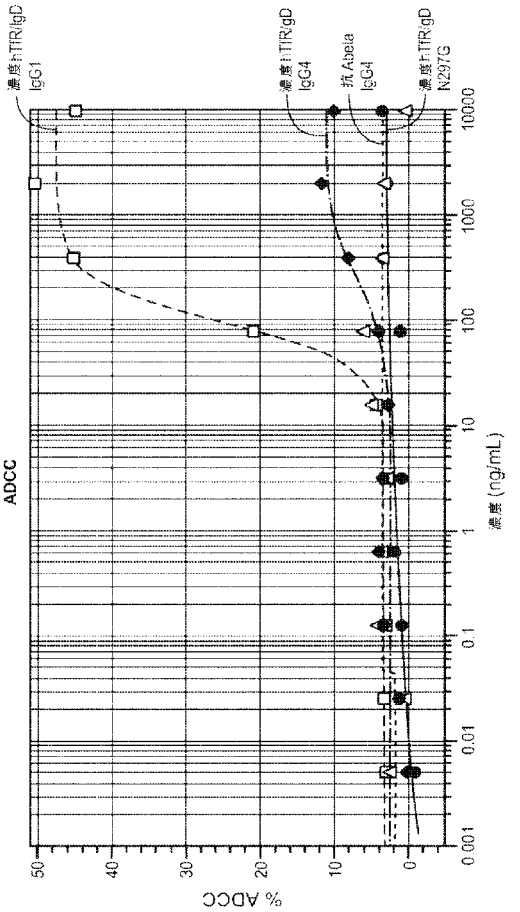
【図８Ｂ】



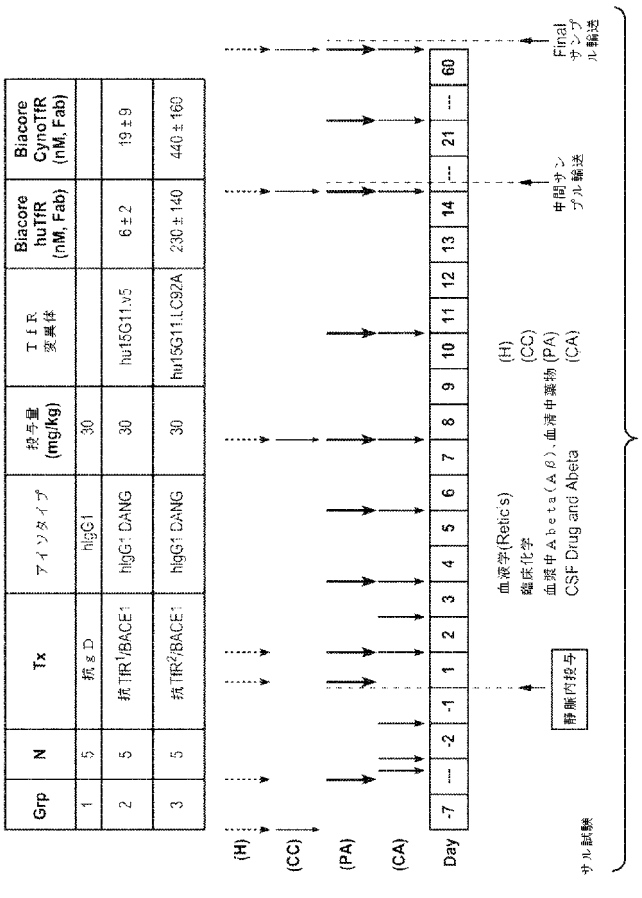
【図９Ａ】



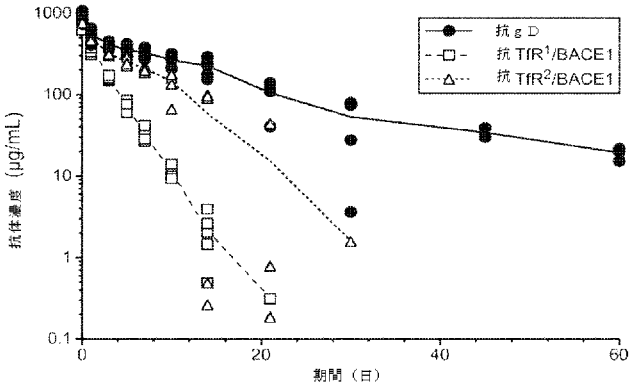
【図９Ｂ】



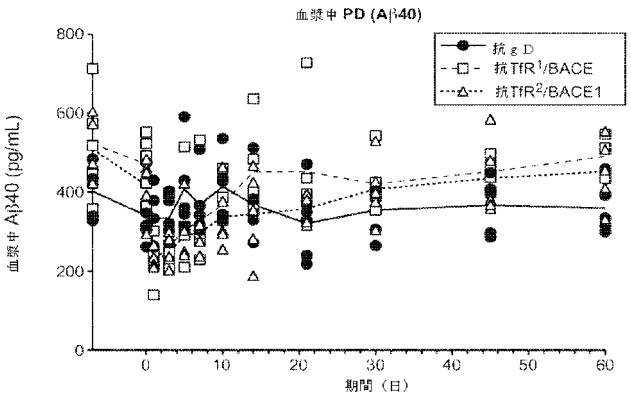
【図１０】



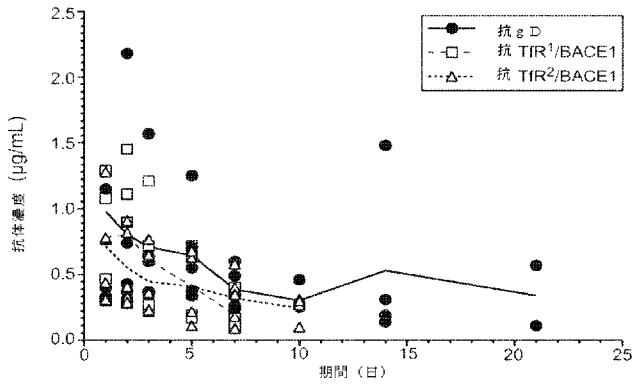
【図１１Ａ】



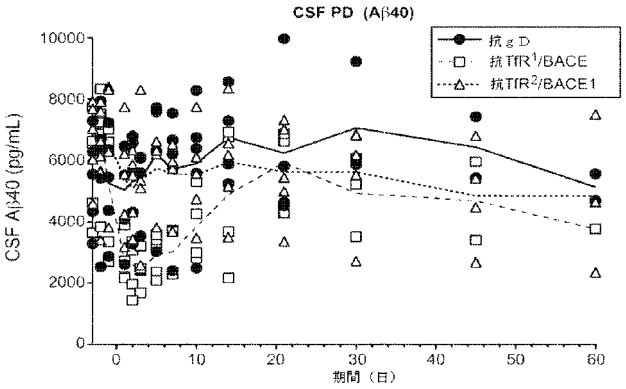
【図１２Ａ】



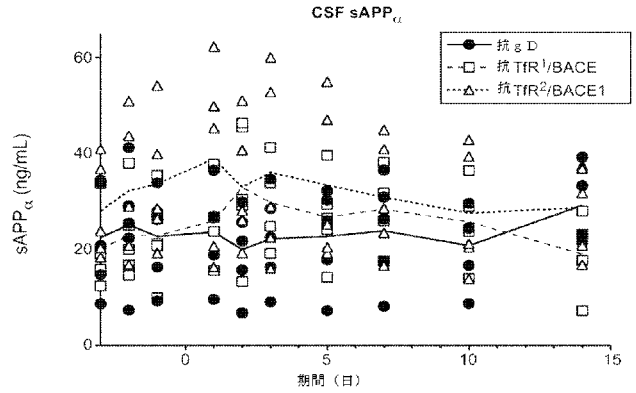
【図１１Ｂ】



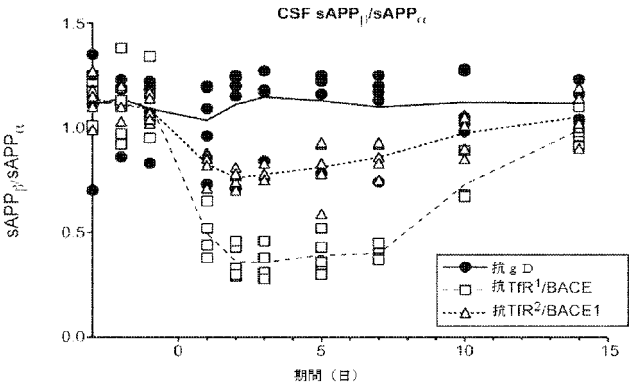
【図１２Ｂ】



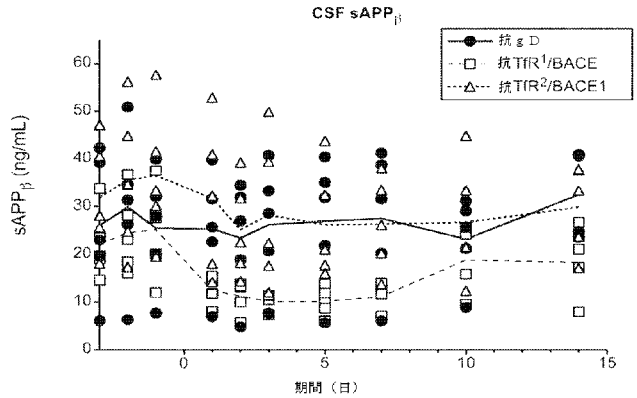
【図１２Ｃ】



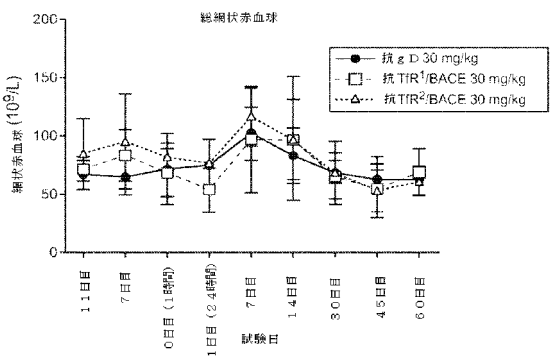
【図１２Ｅ】



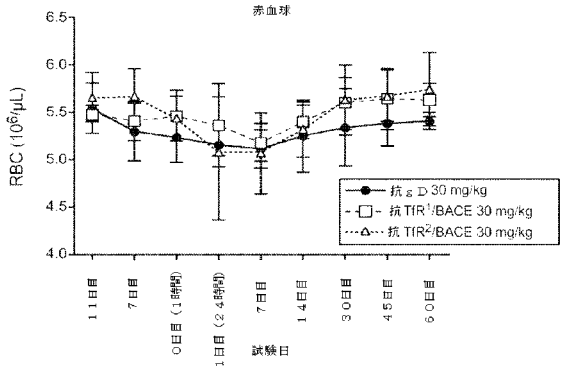
【図１２Ｄ】



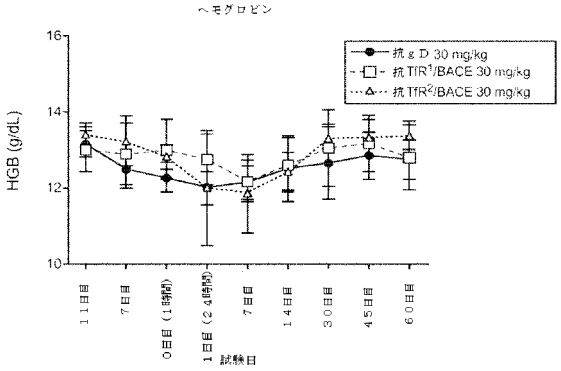
【図１３Ａ】



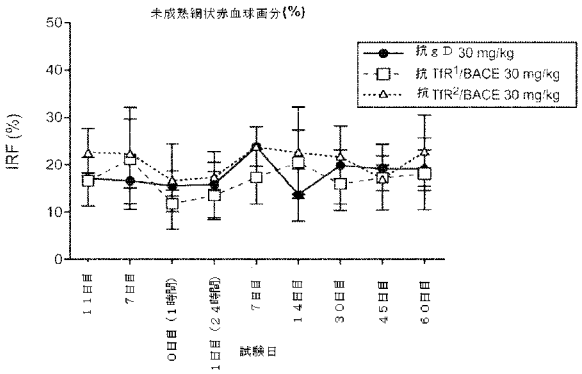
【図１３Ｂ】



【図１３Ｄ】

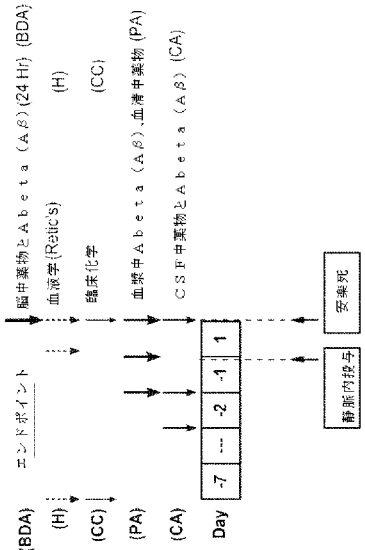


【図１３Ｃ】

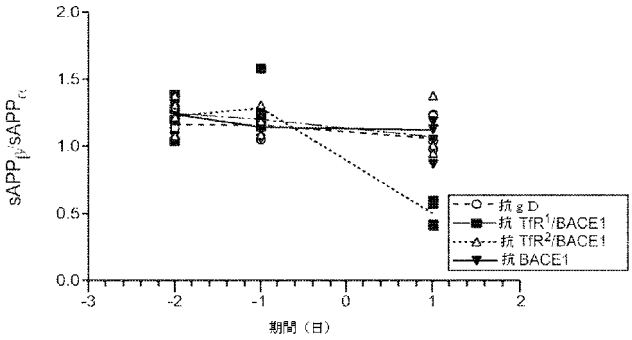


【図１４】

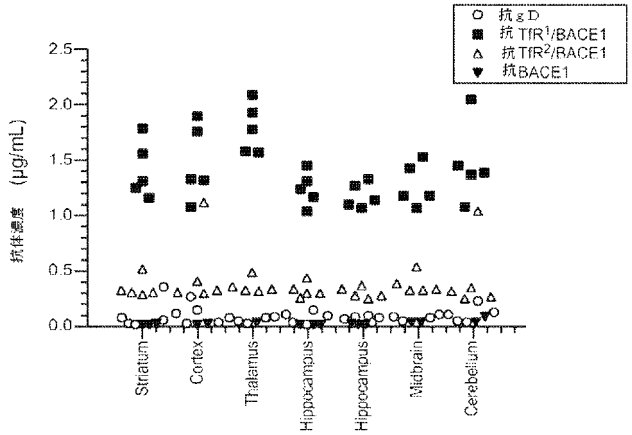
Grp	N	Tx	アイソタイプ	投与量 (mg/kg)	TfR 変異体	Biacore huTfR (nM, Fab)	Biacore CynoTfR (nM, Fab)
1	5	抗gD	hIgG1	30			
2	5	抗TfR1/BACE1	hIgG1 DANG	30	hu15G11.v5	6 ± 2	19 ± 9
3	5	抗TfR2/BACE1	hIgG1 DANG	30	hu15G11.LC92A	230 ± 140	440 ± 160
4	5	抗BACE1	hIgG1	30	N/A	-	-



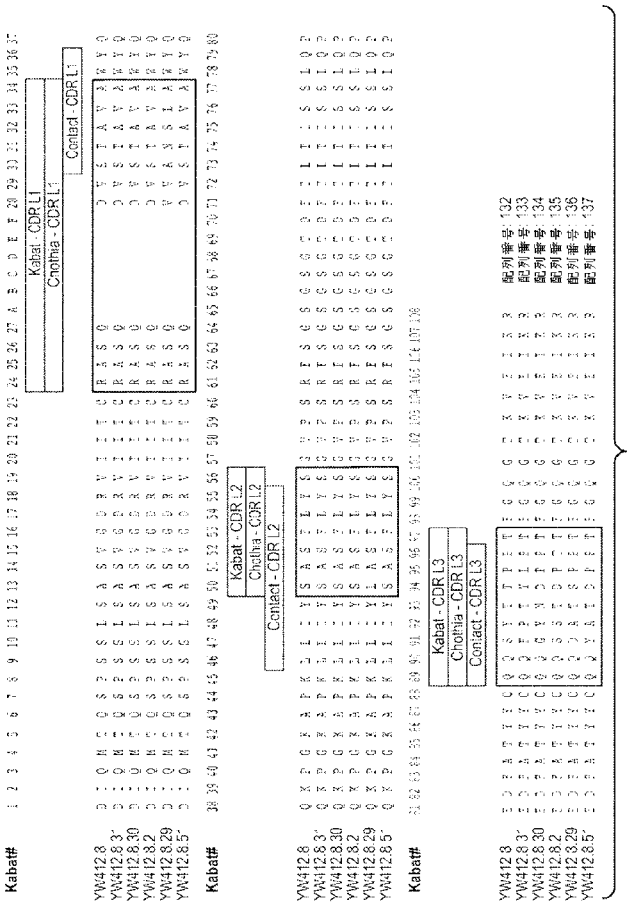
【図１５Ａ】



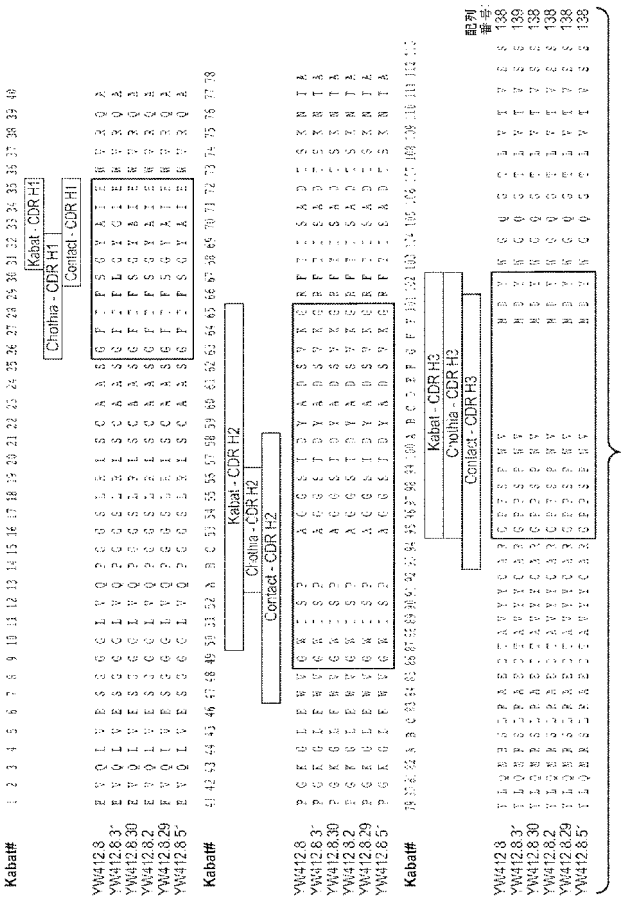
【図１５Ｂ】



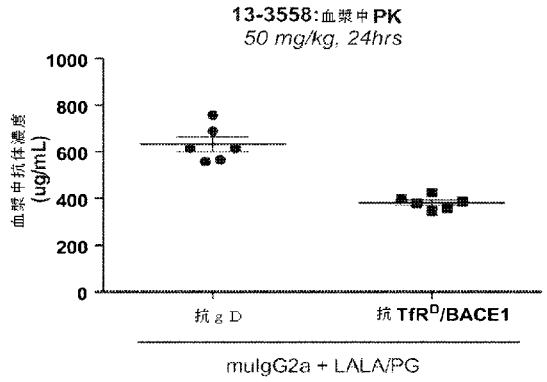
【図１６Ａ】



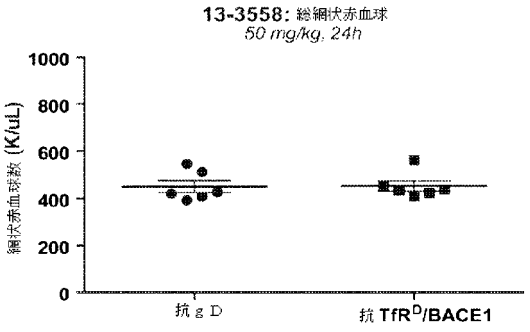
【図１６Ｂ】



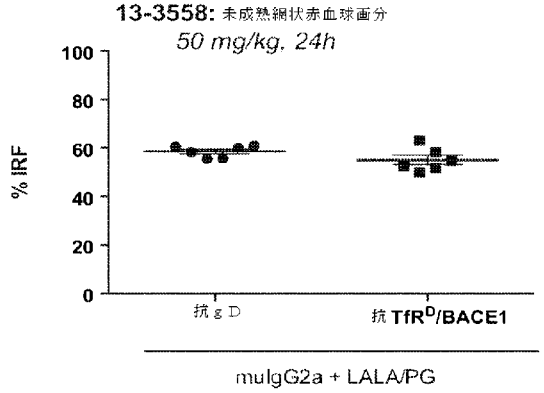
【図１７】



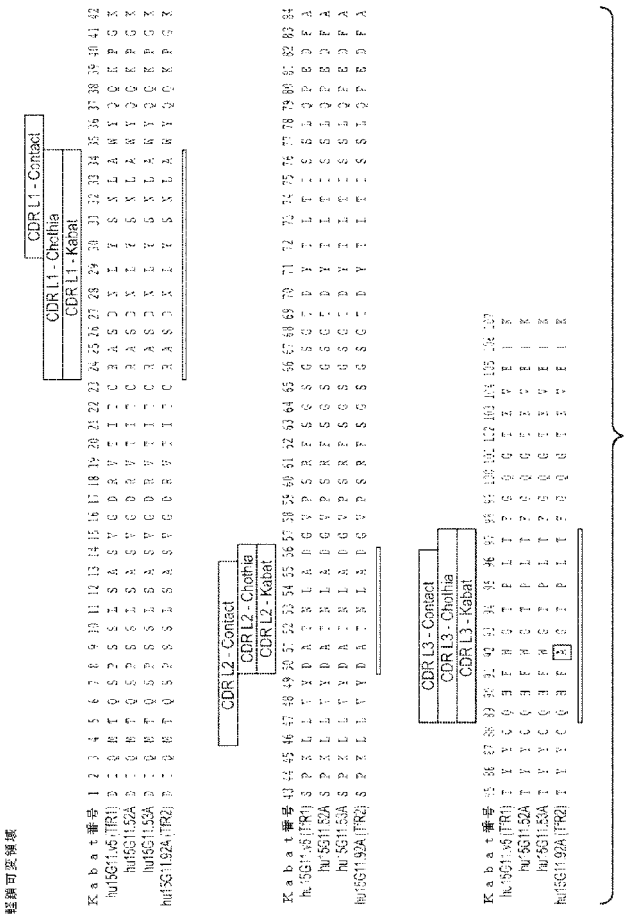
【図１８Ｂ】



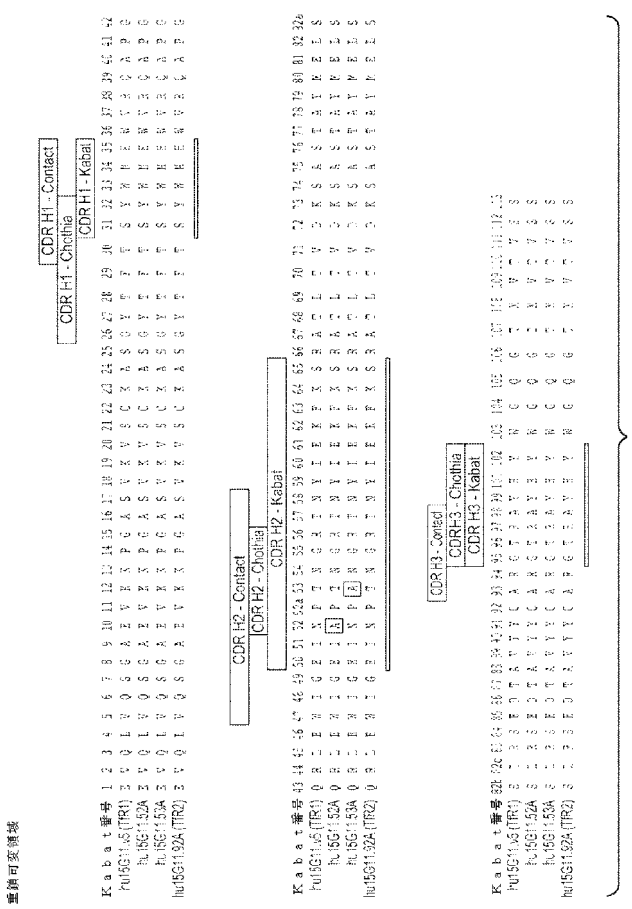
【図１８Ａ】



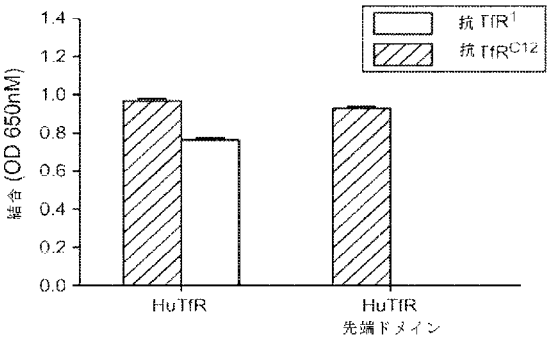
【図１９Ａ】



【図１９Ｂ】



【図２０】



【図２１Ａ】

Ab Name	エピトープ	VH HVR1	H1 配列	VH HVR2	H2 配列	VH HVR3	H3 配列
5531	2	FTFSSYAMS	151	AISGSGGSTYYADSVKG	172	AKGGSQWLYAPGSWFDP	200
5586	2	FTFSSYAMS	151	AISGSGGSTYYADSVKG	172	AKGGSQWLYAPGSWFDP	200
5583	2	FTFSSYAMS	151	AISGSGGSTYYADSVKG	172	AKGGSQWLYAPGSWFDP	200
5532	2	FTFSSYAMS	151	ATSGSGGSTYYADSVKG	172	AKGAGHGSYVKGWFDP	201
5592	2	FTFSSYAMS	151	AISGSGGSTYYADSVKG	172	AKGAGHGSYVKGWFDP	201
5878	2	FTFSSYAMS	151	AISGSGISTPYADSVKG	175	AKGAGHGSYVKGWFDP	201
5874	2	FTFGSYAMS	152	ATSGSGGSTYYADSVKG	173	AKGGSQWLYAPGSWFDP	200
5875	2	FTFSTYAMG	153	ATSGSGGSTYYADSVKG	173	AKGGSQWLYAPGSWFDP	200
5876	2	FTFSSRAMG	154	ATSGSGGSIYYADSVKG	174	AKGGSQWLYAPGSWFDP	200
5880	2	FTFGSYAMT	155	ATSGSGISTPYADSVKG	175	AKGAGHGSYVKGWFDP	201
5881	2	FTFSKYAMS	156	AISGSGISTPYADSVKG	175	AKGAGHGSYVKGWFDP	201
5260	3	GTFSSYAIS	157	SIIPIFGTANYAQKFQG	176	ARSGGTKYGMLDV	202
5572	3	GTFSSYAIS	157	SIIPIFGTANYAQKFQG	176	ARSGGTKYGMLDV	202
5536	3	GTFSSYAIS	157	SIIPIFGTANYAQKFQG	176	ARSGGTKYGMLDV	202
5571	3	GTFSSYAIS	157	NIIPIFGTANYAQKFQG	177	ARSGGTKYGMLDV	202
5883	3	GTFSSYAIS	157	GIIPIGGGANYAQKFQG	178	ARSGGTKYGMLDV	202
5890	3	GTFSSYAIS	157	NIIPGFGTANYAQKFQG	179	ARSGGTKYGMLDV	202
5891	3	GTFSSYAIS	157	NIIPIFGPANYAQKFQG	181	ARSGGTKYGMLDV	202
5892	3	GTFSSYAIS	157	NIIPIFGTATYAQKFQG	182	ARSGGTKYGMLDV	202
5884	3	GTFSGYGIS	158	NIIPGFGTANYAQKFQG	179	ARSGGTKYGMLDV	202
6272	3	GTFSGYGIS	158	NIIPGFGTANYAQKFQG	179	ARSGGTKYGMLDV	202
6270	3	GTFSGYGIS	158	NIIPGFGTANYAQKFQG	179	ARSGGTKYGMLDV	202
6273	3	GTFSGYGIS	158	NIIPGFGTANYAQKFQG	179	ARSGGTKYGMLDV	202

【図２１Ｂ】

Ab Name	エピトープビン	VH HVR1	H1 配列	VH HVR2	H2 配列	VH HVR3	H3 配列
6274	3	GTFSGYGIS	158	NIIPGFGTANYAQKFQG	179	ARSGGTKYGMLDV	202
5893	3	GTFRGYAIS	159	NIIPGFGTANYAQKFQG	179	ARSGGTKYGMLDV	202
5887	3	GTFRGYAIS	159	NLIPGFGTANYAQKFQG	179	ARSGGTKYGMLDV	202
6275	3	GTFRGYAIS	159	NIIPGFGTANYAQKFQG	179	ARSGGTKYGMLDV	202
6279	3	GTFRGYAIS	159	NIIPGFGTANYAQKFQG	179	ARSGGTKYGMLDV	202
6276	3	GTFRGYAIS	159	NIIPGLSTANYAQKFQG	189	ARSGGTKYGMLDV	202
5888	3	GTFWKYAIS	160	NIIPGFGTANYAQKFRG	180	ARSGGTKYGMLDV	202
5894	3	GTFSGYAIS	161	NIIPGFGTANYAQKFQG	179	ARSGGTKYGMLDV	202
5543	3	GSISSSSYYWG	162	SIYYSGSTYYNPSLKS	405	ARVGHGISYFDL	203
5643	3	GSISSSSYYWG	162	SIYYSGSTYYNPSLKS	405	ARVGHGISYFDL	203
5644	3	GSISSSSYYWG	162	SIYYSGSIYYNPSLKS	405	ARVGHGISYFDL	203
5896	3	GSISSSSYYWG	162	SIYRSGSTYYNPSLKS	183	ARVGHGISYFDL	203
5902	3	GSISSSSYYWG	162	SIYRSGSTWYNPSLKS	185	ARVGHGISYFDL	203
5903	3	GSISSSSYYWG	162	MIYYSGSTWYNPSLKS	186	ARVGHGISYFDL	203
6290	3	GSISSSSYYWG	162	MIYYSGSTWYNPSLKS	186	ARVGLGVSYFDL	206
6291	3	GSISSSSYYWG	162	MIYYSGSTWYNPSLKS	186	ARVGHGVSYFDL	207
6293	3	GSISSSSYYWG	162	MIYYSGSTWYNPSLRS	191	ARVGHGVSYFDL	207
6289	3	GSISSSSYYWG	162	SIYRSGSTYYNPSLRS	193	VRVGHGISYFDL	208
5747	3	GSISSSSYYWG	162	NIYYSGSTYYNPSLKS	194	ARLGHGYSYFDL	209
5982	3	GSISSSSYYWG	162	NIYYSGSTYYNPSLKS	194	ARLGHGVSYFDL	209
5985	3	GSISSSSYYWG	162	NIYYSGSTYYNPSLKS	194	ARLGHGVNYFDL	210
5983	3	GSISSSSYYWG	162	NTYYSGSTYYNPSLRS	195	ARLGHGVNYFDL	210
5984	3	GSISSSSYYWG	162	NIYYSGSTYYNPSLKG	196	ARLGHGVNYFDL	210

【図２１Ｃ】

Ab Name	エピトープビン	VH HVR1	H1 配列	VH HVR2	H2 配列	VH HVR3	H3 配列
5986	3	GSISSSSYYWG	162	QIYYSGSTFYNPSLKS	197	ARLGHGYSYFDL	209
6296	3	GSISSSSYYWG	162	NIYYSGSTYYNPSLRG	198	ARLGHGVNYFDL	210
5897	3	GSISWSSYYWS	163	SIYKSGRTYYNPSLKS	184	ARVGHGISYFDL	203
5905	3	GSISWSSYYWS	163	SIYRSGRTYYNPSLKS	187	ARVGHGISYFDL	203
6311	3	GSISWSSYYWS	163	SIYRSGRTYYNPSLKS	187	ARVGHGINYFDL	205
6309	3	GSISWSSYYWS	163	SIYRSGRTYYNPSLKS	187	ARVGHGINYFDL	205
6310	3	GSISWSSYYWS	163	SIYRSGRTYYNPSLKS	187	ARVGHGINYFDL	205
6308	3	GSISWSSYYWS	163	SIYRSGRTYYNPSLKS	187	ARVGHGINYFDL	205
5990	3	GSISWSSYYWS	163	SIYRSGRTYYNPSLKS	187	ARVGHGINYFDL	205
6307	3	GSISWSSYYWS	163	SIYRSGRTYYNPSLKG	190	ARVGHGINYFDL	205
5931	3	GSISWSSYYWS	163	SIYRSGRTYYNPSLKG	190	ARVGHGINYFDL	205
6298	3	GSISWSSYYWS	163	NIYYSGSTYYNPSLKS	194	ARLGHGVNYFDL	210
5930	3	GTLSGYAIS	164	NIIPGFGTANYAQKSQG	188	ARSGGTRYGMLDV	204
5988	3	GTLSGYAIS	164	NIIPGFGTANYAQKSQG	188	ARSGGTRYGMLDV	204
6299	3	GTLSGYAIS	164	NIIPGFGTANYAQKSQG	188	ARSGGTRYGMLDV	204
6300	3	GTLSGYAIS	164	NIIPGFGTANYAQKSQG	188	ARSGGTRYGMLDV	204
6305	3	GTLSGYAIS	164	NIIPGFGTANYAQKSQG	188	ARSGGTRYGMLDV	204
5987	3	GTLSGYAIS	164	NIIPGFGTANYAQKSQG	188	ARSGGTRYGMLDV	204
6303	3	GTLSGYAIS	164	NIIPGFGTANYAQKSQG	188	ARSGGTRYGMLDV	204
6266	3	GTLSGYGVS	165	NIIPGFGTANYAQKFQG	179	ARSGGTKYGMLDV	202
6271	3	GTISGYGIS	166	NIIPGFGTANYAQKFQG	179	ARSGGTKYGMLDV	202
6297	3	GPISSSSYYWG	167	NIYYSGSTYYNPSLRG	198	ARLGHGYNYFDL	210
6294	3	GSISSSSHYWG	168	MIYYSGSTWYNPSLKS	186	ARVGHGVSYFDL	207
5932	3	GSISRGSYYWG	169	MIYYSGSTWYNPSLKS	186	ARVGHGISYFDL	203

【図２１Ｄ】

Ab Name	エピトープビン	VH HVR1	H1 配列	VH HVR2	H2 配列	VH HVR3	H3 配列
6313	3	GSISRGSYYWG	169	MIYYSGSTWYNPSLKS	186	ARVGHGVSYFDL	207
6314	3	GSISRGSYYWG	169	MIYYSGSTWYNPSLKS	186	ARVGHGVSYFDL	207
6315	3	GSISRGSYYWG	169	MIYYSGSTWYNPSLKS	186	ARVGHGVSYFDL	207
5933	3	GSISRGSYYWG	169	MIYYSGSTWYNPSLKS	186	ARVGHGVSYFDL	207
6285	3	GSISSSSYYWG	170	SIYRSGSTYYNPSFKS	183	ARVGHGISYFDL	203
6280	3	GSISSSSYYWG	170	SIYRSGSTYYNPSFKS	192	ARVGHGISYFDL	203
6288	3	GSISSSSYYWG	170	SIYRSGSTYYNPSLRS	193	ARVGHGISYFDL	203
5539	3	YTFTGYYMH	171	SINPNSGGTNYAQKFQG	199	ARVRVRHYGMDV	211

【図２２Ａ】

Ab Name	エピトープビン	VL HVR1	L1 配列	VL HVR2	L2 配列	VL HVR3	L3 配列
5531	2	RASQSISSYLN	212	AASSLQS	219	QQSYSVPLT	225
5586	2	RASQSISSYLN	212	AASSLQS	219	DESYSTPPWT	248
5583	2	RASQSVSSYLA	213	DASNRAT	220	VQRSNFPWT	226
5532	2	RASQSVSSYLA	213	DASNRAT	220	QQSSNFPFT	227
5592	2	RASQSVSSYLA	213	DASNRAT	220	QQSVNFPFT	228
5878	2	RASQSVSSYLA	213	DASNRAT	220	QQSVNFPFT	228
5874	2	RASQSVSSYLA	213	DASNRAT	220	VQRSNFPWT	226
5875	2	RASQSVSSYLA	213	DASNRAT	220	VQRSNFPWT	226
5876	2	RASQSVSSYLA	213	DASNRAT	220	VQRSNFPWT	226
5880	2	RASQSVSSYLA	213	DASNRAT	220	QQSVNFPFT	228
5881	2	RASQSVSSYLA	213	DASNRAT	220	QQSVNFPFT	228
5260	3	RASQSVGSNLA	214	GASTRAT	221	QQAVVWPPRT	229
5572	3	RASQSVGSNLA	214	GASTRAT	221	QQLYTWPPRT	231
5536	3	RASQSVGSNLA	214	GASTRAT	221	QQSYLWPPRT	236
5571	3	RASQSVSSNLA	215	GASTRAT	221	QQLILWPPRT	230
5883	3	RASQSVSSNLA	215	GASTRAT	221	QQLILWPPRT	230
5890	3	RASQSVGSNLA	214	GASTRAT	221	QQLYTWPPRT	231
5891	3	RASQSVGSNLA	214	GASTRAT	221	QQLYTWPPRT	231
5892	3	RASQSVGSNLA	214	GASTRAT	221	QQLYTWPPRT	231
5884	3	RASQSVSSNLA	215	GASTRAT	221	QQLILWPPRT	230
6272	3	RASQSVSSNLA	215	GASTRAT	221	QQLFLWPPRT	235
6270	3	RASQSVSSNLA	215	GASTRAT	221	QQLLLWPPRT	240
6273	3	RASQSVSSNIA	216	GASTRAT	221	QQLLLWPPRT	240
6274	3	RASQSVSSHLA	217	GASTRAT	221	QQLILWPPRT	230
5893	3	RASQSVGSNLA	214	GASTRAT	221	QQLYTWPPRT	231
5887	3	RASQSVSSNLA	215	GASTRAT	221	QQLILWPPRT	230
6275	3	RASQSVSSNLA	215	GASTRAT	221	QQLFLWPPRT	235
6279	3	RASQSVSSNLA	215	GASTRAT	221	QQLLLWPPRT	240
6276	3	RASQSVSSNLA	215	GASTRAT	221	QQLILWPPRT	230

【図２２Ｂ】

Ab Name	エピトープビン	VL HVR1	L1配列	VL HVR2	L2配列	VL HVR3	L3配列
5888	3	RASQSVSSNLA	215	GASTRAT	221	QQLILWPPRT	230
5894	3	RASQSVGSNLA	214	GASTRAT	221	QQLYTWPPRT	231
5543	3	RASQSVSSYLA	213	DASNRAT	220	QQAYVWPPRT	232
5643	3	RASQSVSSYLA	213	DASNRAT	220	QQSLTWPPRT	233
5644	3	RASQSVSSYLA	213	DASKRAT	222	QQVYTWPPRT	234
5896	3	RASQSVSSYLA	213	DASNRAT	220	QQSLTWPPRT	233
5902	3	RASQSVSSYLA	213	DASKRAT	222	QQVYTWPPRT	234
5903	3	RASQSVSSYLA	213	DASKRAT	222	QQVYTWPPRT	234
6290	3	RASQSVSSYLA	213	DASKRAT	222	QQVYTWPPRT	234
6291	3	RASQSVSSYLA	213	GASKRAT	223	QQVYTWPPRT	234
6293	3	RASQSVSSYLA	213	DASKRAT	222	QQVYTWPPRT	234
6289	3	RASQSVSSYLA	213	DASNRAT	220	QQSLTWPPRT	233
5747	3	RASQSVSSYLA	213	DASNRAT	220	QQVYLWPPRT	245
5982	3	RASQSVSSYLA	213	DASNRAT	220	QQVYVWPPRT	246
5985	3	RASQSVSSYLA	213	DASNRAT	220	QQVYVWPPRT	246
5983	3	RASQSVSSYLA	213	DASNRAT	220	QQVYVWPPRT	246
5984	3	RASQSVSSYLA	213	DASNRAT	220	QQVYVWPPRT	246
5986	3	RASQSVSSYLA	213	DASNRAT	220	QQVYVWPPRT	246
6296	3	RASQSVSSYLA	213	DASNRAT	220	QQVYVWPPRT	246
5897	3	RASQSVSSYLA	213	DASNRAT	220	QQSLTWPPRT	233
5905	3	RASQSVSSYLA	213	DASKRAT	222	QQVYTWPPRT	234
6311	3	RASQSVSSYLA	213	DASNRAT	220	QQSLTWPPRT	233
6309	3	RASQSVSSYLA	213	DASNRAT	220	QQSITWPPRT	243
6310	3	RASQSVSSYLA	213	DASNRAT	220	QQSVTWPPRT	244
6308	3	RASQSVSSYLA	213	DASKRAT	222	QQSLVWPPRT	242
5990	3	RASRSVNSYLA	218	DASKRAT	222	QQVYTWPPRT	234
6307	3	RASQSVSSYLA	213	DASNRAT	220	QQSIVWPPRT	241

【図２２Ｃ】

Ab Name	エピトープビン	VL HVR1	L1配列	VL HVR2	L2配列	VL HVR3	L3配列
5931	3	RASQSVSSYLA	213	DASKRAT	222	QQVYTWPPRT	234
6298	3	RASQSVSSYLA	213	DASNRAT	220	QQVYVWPPRT	246
5930	3	RASQSVGSNLA	214	GASTRAT	221	QQLYTWPPRT	231
5988	3	RASQSVGSNLA	214	GASTRAT	221	QQLYTWPPRT	231
6299	3	RASQSVGSNLA	214	GASTRAT	221	QQSYLWPPRT	236
6300	3	RASQSVGSNLA	214	GASTRAT	221	QQSFLWPPRT	237
6305	3	RASQSVGSNLA	214	GASTRAT	221	QQSFVWPPRT	239
5987	3	RASQSVSSNLA	215	GASTRAT	221	QQLFLWPPRT	235
6303	3	RASQSVSSNLA	215	GASTRAT	221	QQLLTWPPRT	238
6266	3	RASQSVSSNLA	215	GASTRAT	221	QQLILWPPRT	230
6271	3	RASQSVSSNLA	215	GASTRAT	221	QQLILWPPRT	230
6297	3	RASQSVSSYLA	213	DASNRAT	220	QQVYVWPPRT	246
6294	3	RASQSVSSYLA	213	DASKRAT	222	QQVYTWPPRT	234
5932	3	RASQSVSSYLA	213	DASKRAT	222	QQVYTWPPRT	234
6313	3	RASQSVSSYLA	213	DASNRAT	220	QQAYVWPPRT	232
6314	3	RASQSVSSYLA	213	DASNRAT	220	QQSIVWPPRT	241
6315	3	RASQSVSSYLA	213	DASKRAT	222	QQSLVWPPRT	242
5933	3	RASQSVSSYLA	213	GASKRAT	223	QQVYTWPPRT	234
6285	3	RASQSVSSYLA	213	DASSRAT	224	QQSLTWPPRT	233
6280	3	RASQSVSSYLA	213	DASNRAT	220	QQSLTWPPRT	233
6288	3	RASQSVSSYLA	213	DASNRAT	220	QQSLTWPPRT	233
5539	3	RASQSISSYLN	212	AASSLQS	219	QQPLSHPRT	247

【図２３Ａ】

Ab Name	エピトープビン	VH配列	VH配列
5531	2	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNSKNT LYLQMNSLRAEDTAVYYCAKGGSQWLYAPGSWFDPWGQGTLVTVSS	249
5586	2	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNSKNT LYLQMNSLRAEDTAVYYCAKGGSQWLYAPGSWFDPWGQGTLVTVSS	249
5583	2	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNSKNT LYLQMNSLRAEDTAVYYCAKGGSQWLYAPGSWFDPWGQGTLVTVSS	249
5532	2	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNSKNT LYLQMNSLRAEDTAVYYCAKGAGHGSYVKGWFDPWGQGTLVTVSS	250
5592	2	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNSKNT LYLQMNSLRAEDTAVYYCAKGAGHGSYVKGWFDPWGQGTLVTVSS	250
5878	2	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGISTPYADSVKGRFTISRDNSKNT LYLQMNSLRAEDTAVYYCAKGAGHGSYVKGWFDPWGQGTLVTVSS	251
5874	2	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFGSYAMSWVRQAPGKGLEWVSATSGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNSKNT LYLQMDSLRAEDTAVYYCAKGGSQWLYAPGSWFDPWGQGTLVTVSS	252
5875	2	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMGWVRQAPGKGLEWVSATSGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNSKNT LYLQMNSLRAEDTAVYYCAKGGSQWLYAPGSWFDPWGQGTLVTVSS	253
5876	2	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSRAMGWVRQAPGKGLEWVSATSGSGGSIYYADSVKGRFTISRDNSKNT LYLQMNSLRAEDTAVYYCAKGGSQWLYAPGSWFDPWGQGTLVTVSS	254
5880	2	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFGSYAMTWVRQAPGKGLEWVSAISGSGISTPYADSVKGRFTISRDNSKNT LYLQMDSLRAEDTAVYYCAKGAGHGSYVKGWFDPWGQGTLVTVSS	255
5881	2	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSKYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGISTPYADSVKGRFTISRDNSKNT LYLQMNSLRAEDTAVYYCAKGAGHGSYVKGWFDPWGQGTLVTVSS	256
5260	3	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSYAISWVRQAPGQGLEWMGSIIPIFGTANYAQKFQGRVTITADESTST AYMELSSLRSEDTAVYYCARSGGTKYGMLDVWGQGTMVTVSS	257

【図２３Ｂ】

Ab Name	エピトープビン	VH配列	VH配列
5572	3	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSYAISWVRQAPGQGLEWMGSIIPIFGTANYAQKFQGRVTITADESTST AYMELSSLRSEDTAVYYCARSGGTKYGMLDVWGQGTMVTVSS	257
5536	3	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSYAISWVRQAPGQGLEWMGSIIPIFGTANYAQKFQGRVTITADESTST AYMELSSLRSEDTAVYYCARSGGTKYGMLDVWGQGTMVTVSS	257
5571	3	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSYAISWVRQAPGQGLEWMGNIIPIFGTANYAQKFQGRVTITADESTST AYMELSSLRSEDTAVYYCARSGGTKYGMLDVWGQGTVVTVSS	258
5883	3	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSYAISWVRQAPGQGLEWMGGIIPIGGGANYAQKFQGRVTITADESTST AYMELSSLRSEDTAVYYCARSGGTKYGMLDVWGQGTMVTVSS	259
5890	3	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSYAISWVRQAPGQGLEWMGNIIPGFGTANYAQKFQGRVTITADESTST AYMELSSLRSEDTAVYYCARSGGTKYGMLDVWGQGTMVTVSS	260
5891	3	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSYAISWVRQAPGQGLEWMGNIIPIFGPANYAQKFQGRVTITADESTST AYMELSSLRSEDTAVYYCARSGGTKYGMLDVWGQGTMVTVSS	261
5892	3	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSYAISWVRQAPGQGLEWMGNIIPIFGTATYAQKFQGRVTITADESTST AYMELSSLRSEDTAVYYCARSGGTKYGMLDVWGQGTMVTVSS	262
5884	3	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSGYGISWVRQAPGQGLEWMGNIIPGFGTANYAQKFQGRVTITADESTST AYMELSSLRSEDTAVYYCARSGGTKYGMLDVWGQGTMVTVSS	263
6272	3	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSGYGISWVRQAPGQGLEWMGNIIPGFGTANYAQKFQGRVTITADESTST AYMELSSLRSEDTAVYYCARSGGTKYGMLDVWGQGTMVTVSS	263
6270	3	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSGYGISWVRQAPGQGLEWMGNIIPGFGTANYAQKFQGRVTITADESTST AYMELSSLRSEDTAVYYCARSGGTKYGMLDVWGQGTMVTVSS	263
6273	3	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSGYGISWVRQAPGQGLEWMGNIIPGFGTANYAQKFQGRVTITADESTST AYMELSSLRSEDTAVYYCARSGGTKYGMLDVWGQGTMVTVSS	263
6274	3	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSGYGISWVRQAPGQGLEWMGNIIPGFGTANYAQKFQGRVTITADESTST AYMELSSLRSEDTAVYYCARSGGTKYGMLDVWGQGTMVTVSS	263

【図２３Ｃ】

Ab Name	エピトープビン	VH 配列	VH配列
5893	3	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFRGYAISWVRQAPGQGLEWMGNIIPGFGTANYAQKFQGRVTITADESTST AYMELSSLRSEDTAVYYCARSGGTKYGMLDVWGQGTMVTVSS	264
5887	3	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFRGYAISWVRQAPGQGLEWMGNIIPGFGTANYAQKFQGRVTITADESTST AYMELSSLRSEDTAVYYCARSGGTKYGMLDVWGQGTMVTVSS	264
6275	3	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFRGYAISWVRQAPGQGLEWMGNIIPGFGTANYAQKFQGRVTITADESTST AYMELSSLRSEDTAVYYCARSGGTKYGMLDVWGQGTMVTVSS	264
6279	3	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFRGYAISWVRQAPGQGLEWMGNIIPGFGTANYAQKFQGRVTITADESTST AYMELSSLRSEDTAVYYCARSGGTKYGMLDVWGQGTMVTVSS	264
6276	3	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFRGYAISWVRQAPGQGLEWMGNIIPGLSTANYAQKFQGRVTITADESTST AYMELSSLRSEDTAVYYCARSGGTKYGMLDVWGQGTMVTVSS	265
5888	3	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFWKYAISWVRQAPGQGLEWMGNIIPGFGTANYAQKFRGRVTITADESTST AYMELSSLRSEDTAVYYCARSGGTKYGMLDVWGQGTMVTVSS	266
5894	3	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSGYAISWVRQAPGQGLEWMGNIIPGFGTANYAQKFQGRVTITADESTST AYMELSSLRSEDTAVYYCARSGGTKYGMLDVWGQGTMVTVSS	267
5543	3	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSSSYYWGWIRQPPGKGLEWIGSIYYSGSTYYNPSLKSRVTISVDTSKN QFSLKLSSVTAADTAVYYCARVGHGISYFDLWGRGTLVTVSS	268
5643	3	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSSSYYWGWIRQPPGKGLEWIGSIYYSGSTYYNPSLKSRVTISVDTSKN QFSLKLSSVTAADTAVYYCARVGHGISYFDLWGRGTLVTVSS	268
5644	3	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSSSYYWGWIRQPPGKGLEWIGSIYYSGSTYYNPSLKSRVTISVDTSKN QFSLKLSSVTAADTAVYYCARVGHGISYFDLWGRGTLVTVSS	268
5896	3	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSSSYYWGWIRQPPGKGLEWIGSIYRSGSTYYNPSLKSRVTISVDTSKN QFSLKLSSVTAADTAVYYCARVGHGISYFDLWGRGTLVTVSS	269
5902	3	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSSSYYWGWIRQPPGKGLEWIGSIYRSGSTWYNPSLKSRVTISVDTSKN QFSLKLSSVTAADTAVYYCARVGHGISYFDLWGRGTLVTVSS	270
5903	3	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSSSYYWGWIRQPPGKGLEWIGMIYYSGSTWYNPSLKSRVTISVDTSKN QFSLKLSSVTAADTAVYYCARVGHGISYFDLWGRGTLVTVSS	271

【図２３Ｄ】

Ab Name	エピトープビン	VH 配列	VH配列
6290	3	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSSSYYWGWIRQPPGKGLEWIGMIYYSGSTWYNPSLKSRVTISVDTSKN QFSLKLSSVTAADTAVYYCARVGLGVSYFDLWGRGTLVTVSS	272
6291	3	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSSSYYWGWIRQPPGKGLEWIGMIYYSGSTWYNPSLKSRVTISVDTSKN QFSLKLSSVTAADTAVYYCARVGHGVSYFDLWGRGTLVTVSS	273
6293	3	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSSSYYWGWIRQPPGKGLEWIGMIYYSGSTWYNPSLRSRVTISVDTSKN QFSLKLSSVTAADTAVYYCARVGHGVSYFDLWGRGTLVTVSS	274
6289	3	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSSSYYWGWIRQPPGKGLEWIGSIYRSGSTYYNPSLRSRVTISVDTSKN QFSLKLSSVTAADTAVYYCVRVGHGISYFDLWGRGTLVTVSS	275
5747	3	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSSSYYWGWIRQPPGKGLEWIGNIYYSGSTYYNPSLKSRVTISVDTSKN QFSLKLSSVTAADTAVYYCARLGHGYSYFDLWGRGTLVTVSS	276
5982	3	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSSSYYWGWIRQPPGKGLEWIGNIYYSGSTYYNPSLKSRVTISVDTSKN QFSLKLSSVTAADTAVYYCARLGHGYSYFDLWGRGTLVTVSS	276
5985	3	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSSSYYWGWIRQPPGKGLEWIGNIYYSGSTYYNPSLKSRVTISVDTSKN QFSLKLSSVTAADTAVYYCARLGHGYNYFDLWGRGTLVTVSS	277
5983	3	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSSSYYWGWIRQPPGKGLEWIGNIYYSGSTYYNPSLRSRVTISVDTSKN QFFLKLSSVTAADTAVYYCARLGHGYNYFDLWGRGTLVTVSS	278
5984	3	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSSSYYWGWIRQPPGKGLEWIGNIYYSGSTYYNPSLKGRVTISVDTSKN QFSLKLSSVTAADTAVYYCARLGHGYNYFDLWGRGTLVTVSS	279
5986	3	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSSSYYWGWIRQPPGKGLEWIGQIYYSGSTFYNPSLKSRVTISVDTSKN QFSLKLSSVTAADTAVYYCARLGHGYSYFDLWGRGTLVTVSS	280
6296	3	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSSSYYWGWIRQPPGKGLEWIGNIYYSGSTYYNPSLRGRVTISVDTSKN QFSLKLSSVTAADTAVYYCARLGHGYNYFDLWGRGTLVTVSS	281
5897	3	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISWSSYYWSWIRQPPGKGLEWIGSIYKSGRTYYNPSLKSRVTISVDTSKN QFSLKLSSVTAADTAVYYCARVGHGISYFDLWGRGTLVTVSS	282
5905	3	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISWSSYYWSWIRQPPGKGLEWIGSIYRSGRTYYNPSLKSRVTISVDTSKN QFSLKLSSVTAADTAVYYCARVGHGISYFDLWGRGTLVTVSS	283

【図２３Ｅ】

Ab Name	エピトープビン	VH 配列	VH配列
6311	3	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISWSSYYWSWIRQPPGKGLEWIGSIYRSGRTYYNPSLKSRVTISVDTSKN QFSLKLSSVTAADTAVYYCARVGHGINYFDLWGRGTLVTVSS	284
6309	3	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISWSSYYWSWIRQPPGKGLEWIGSIYRSGRTYYNPSLKSRVTISVDTSKN QFSLKLSSVTAADTAVYYCARVGHGINYFDLWGRGTLVTVSS	284
6310	3	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISWSSYYWSWIRQPPGKGLEWIGSIYRSGRTYYNPSLKSRVTISVDTSKN QFSLKLSSVTAADTAVYYCARVGHGINYFDLWGRGTLVTVSS	284
6308	3	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISWSSYYWSWIRQPPGKGLEWIGSIYRSGRTYYNPSLKSRVTISVDTSKN QFSLKLSSVTAADTAVYYCARVGHGINYFDLWGRGTLVTVSS	284
5990	3	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISWSSYYWSWIRQPPGKGLEWIGSIYRSGRTYYNPSLKSRVTISVDTSKN QFSLKLSSVTAADTAVYYCARVGHGINYFDLWGRGTLVTVSS	284
6307	3	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISWSSYYWSWIRQPPGKGLEWIGSIYRSGRTYYNPSLKGRVTISVDTSKN QFSLKLSSVTAADTAVYYCARVGHGINYFDLWGRGTLVTVSS	285
5931	3	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISWSSYYWSWIRQPPGKGLEWIGSIYRSGRTYYNPSLKGRVTISVDTSKN QFSLKLSSVTAADTAVYYCARVGHGINYFDLWGRGTLVTVSS	285
6298	3	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISWSSYYWSWIRQPPGKGLEWIGNIYYSGSTYYNPSLKSRVTISVDTSKN QFSLKLSSVTAADTAVYYCARLGHGYNYFDLWGRGTLVTVSS	286
5930	3	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTLSGYAISWVRQAPGQGLEWMGNIIPGFGTANYAQKSQGRVTITADESTST AYMELSSLRSEDTAVYYCARSGGTRYGMLDVWGQGTMVTVSS	287
5988	3	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTLSGYAISWVRQAPGQGLEWMGNIIPGFGTANYAQKSQGRVTITADESTST AYMELSSLRSEDTAVYYCARSGGTRYGMLDVWGQGTMVTVSS	287
6299	3	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTLSGYAISWVRQAPGQGLEWMGNIIPGFGTANYAQKSQGRVTITADESTST AYMELSSLRSEDTAVYYCARSGGTRYGMLDVWGQGTMVTVSS	287
6300	3	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTLSGYAISWVRQAPGQGLEWMGNIIPGFGTANYAQKSQGRVTITADESTST AYMELSSLRSEDTAVYYCARSGGTRYGMLDVWGQGTMVTVSS	287
6305	3	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTLSGYAISWVRQAPGQGLEWMGNIIPGFGTANYAQKSQGRVTITADESTST AYMELSSLRSEDTAVYYCARSGGTRYGMLDVWGQGTMVTVSS	287

【図２３Ｆ】

Ab Name	エピトープビン	VH 配列	VH配列
5987	3	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTLSGYAISWVRQAPGQGLEWMGNIIPGFGTANYAQKSQGRVTITADESTST AYMELSSLRSEDTAVYYCARSGGTRYGMLDVWGQGTMVTVSS	287
6303	3	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTLSGYAISWVRQAPGQGLEWMGNIIPGFGTANYAQKSQGRVTITADESTST AYMELSSLRSEDTAVYYCARSGGTRYGMLDVWGQGTMVTVSS	287
6266	3	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTLSGYGVSWVRQAPGQGLEWMGNIIPGFGTANYAQKFQGRVTITADESTST AYMELSSLRSEDTAVYYCARSGGTKYGMLDVWGQGTMVTVSS	288
6271	3	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTISGYGTSWVRQAPGQGLEWMGNIIPGFGTANYAQKFQGRVTITADESTST AYMELSSLRSEDTAVYYCARSGGTKYGMLDVWGQGTMVTVSS	289
6297	3	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGPISSSSYYWGWIRQPPGKGLEWIGNIYYSGSTYYNPSLRGRVTISVDTSKN QFSLKLSSVTAADTAVYYCARLGHGYNYFDLWGRGTLVTVSS	290
6294	3	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSSSHYWGWIRQPPGKGLEWIGMIYYSGSTWYNPSLKSRVTISVDTSKN QFSLKLSSVTAADTAVYYCARVGHGVSYFDLWGRGTLVTVSS	291
5932	3	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISRGSYYWGWIRQPPGKGLEWIGMIYYSGSTWYNPSLKSRVTISVDTSKN QFSLKLSSVTAADTAVYYCARVGHGISYFDLWGRGTLVTVSS	292
6313	3	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISRGSYYWGWIRQPPGKGLEWIGMIYYSGSTWYNPSLKSRVTISVDTSKN QFSLKLSSVTAADTAVYYCARVGHGVSYFDLWGRGTLVTVSS	293
6314	3	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISRGSYYWGWIRQPPGKGLEWIGMIYYSGSTWYNPSLKSRVTISVDTSKN QFSLKLSSVTAADTAVYYCARVGHGVSYFDLWGRGTLVTVSS	293
6315	3	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISRGSYYWGWIRQPPGKGLEWIGMIYYSGSTWYNPSLKSRVTISVDTSKN QFSLKLSSVTAADTAVYYCARVGHGVSYFDLWGRGTLVTVSS	293
5933	3	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISRGSYYWGWIRQPPGKGLEWIGMIYYSGSTWYNPSLKSRVTISVDTSKN QFSLKLSSVTAADTAVYYCARVGHGVSYFDLWGRGTLVTVSS	293
6285	3	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSTSSSSYYWGWIRQPPGKGLEWIGSIYRSGSTYYNPSLKSRVTISVDTSKN QFSLKLSSVTAADTAVYYCARVGHGISYFDLWGRGTLVTVSS	294
6280	3	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSTSSSSYYWGWIRQPPGKGLEWIGSIYRSGSTYYNPSFKSRVTISVDTSKN QFSLKLSSVTAADTAVYYCARVGHGISYFDLWGRGTLVTVSS	295

【図２３Ｇ】

Ab Name	エピトープドメイン	VH配列	VH配列
6288	3	QLQLQESGPGLVKPSETLSLICTVSGGSTSSSSYYWGWIRQPPGKGLEWIGSIYRSGSTYYNPSLRSRVTISVDTSKN QFSLKLSSVTAADTAVYYCARVGHGIESYFDLWGRGTLVTVSS	296
5539	3	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGGYIFTGYYMHWVRQAPGQGLEWMGSINPNSGGTNYAQKFQGRVTMTRDTSIST AYMELSRLRSDDTAVYYCARVRVRHYGMDVWGQGTTVTVSS	297

【図２４Ａ】

Ab Name	エピトープドメイン	VL蛋白質	VL配列
5531	2	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCQQSYSVPLTFGGGTKVEIK	298
5586	2	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCDESYSTPPWTFGGGTKVEIK	299
5583	2	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTL TISSLEPEDFAVYYCVQRSNFPWTFGGGTKVEIK	300
5632	2	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTL TISSLEPEDFAVYYCQQSSNFPFTFGGGTKVEIK	301
5592	2	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTL TISSLEPEDFAVYYCQQSVNFPFTFGGGTKVEIK	302
5878	2	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTL TISSLEPEDFAVYYCQQSVNFPFTFGGGTKVEIK	302
5874	2	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTL TISSLEPEDFAVYYCVQRSNFPWTFGGGTKVEIK	300
5875	2	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTL TISSLEPEDFAVYYCVQRSNFPWTFGGGTKVEIK	300
5876	2	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTL TISSLEPEDFAVYYCVQRSNFPWTFGGGTKVEIK	300
5880	2	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTL TISSLEPEDFAVYYCQQSVNFPFTFGGGTKVEIK	302
5881	2	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTL TISSLEPEDFAVYYCQQSVNFPFTFGGGTKVEIK	302
5260	3	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVGSNLAWYQQKPGQAPRLLIYGASTRATGIPARFSGSGSGTEFTL TISSLQSEDFAVYYCQQAVVWPPRTFGGGTKVEIK	303
5572	3	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVGSNLAWYQQKPGQAPRLLIYGASTRATGIPARFSGSGSGTEFTL TISSLQSEDFAVYYCQQLYIWPPRTFGGGTKVEIK	304

【図２４Ｂ】

Ab Name	エピトープドメイン	VL蛋白質	VL配列
5536	3	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVGSNLAWYQQKPGQAPRLLIYGASTRATGIPARFSGSGSGTEFTL TISSLQSEDFAVYYCQQSYLWPPRTFGGGTKVEIK	305
5571	3	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVSSNLAWYQQKPGQAPRLLIYGASTRATGIPARFSGSGSGTEFTL TISSLQSEDFAVYYCQQLTLWPPRTFGGGTKVEIK	306
5883	3	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVSSNLAWYQQKPGQAPRLLIYGASTRATGIPARFSGSGSGTEFTL TISSLQSEDFAVYYCQQLTLWPPRTFGGGTKVEIK	306
5890	3	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVGSNLAWYQQKPGQAPRLLIYGASTRATGIPARFSGSGSGTEFTL TISSLQSEDFAVYYCQQLYTWPPRTFGGGTKVEIK	304
5891	3	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVGSNLAWYQQKPGQAPRLLIYGASTRATGIPARFSGSGSGTEFTL TISSLQSEDFAVYYCQQLYTWPPRTFGGGTKVEIK	304
5892	3	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVGSNLAWYQQKPGQAPRLLIYGASTRATGIPARFSGSGSGTEFTL TISSLQSEDFAVYYCQQLYTWPPRTFGGGTKVEIK	304
5884	3	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVSSNLAWYQQKPGQAPRLLIYGASTRATGIPARFSGSGSGTEFTL TISSLQSEDFAVYYCQQLILWPPRTFGGGTKVEIK	306
6272	3	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVSSNLAWYQQKPGQAPRLLIYGASTRATGIPARFSGSGSGTEFTL TISSLQSEDFAVYYCQQLFLWPPRTFGGGTKVEIK	307
6270	3	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVSSNLAWYQQKPGQAPRLLIYGASTRATGIPARFSGSGSGTEFTL TISSLQSEDFAVYYCQQLLLWPPRTFGGGTKVEIK	308
6273	3	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVSSNIAWYQQKPGQAPRLLIYGASTRATGIPARFSGSGSGTEFTL TISSLQSEDFAVYYCQQLLLWPPRTFGGGTKVEIK	309
6274	3	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVSSHLAWYQQKPGQAPRLLIYGASTRATGIPARFSGSGSGTEFTL TISSLQSEDFAVYYCQQLILWPPRTFGGGTKVEIK	310
5893	3	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVGSNLAWYQQKPGQAPRLLIYGASTRATGIPARFSGSGSGTEFTL TISSLQSEDFAVYYCQQLYTWPPRTFGGGTKVEIK	304
5887	3	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVSSNLAWYQQKPGQAPRLLIYGASTRATGIPARFSGSGSGTEFTL TISSLQSEDFAVYYCQQLILWPPRTFGGGTKVEIK	306

【図２４Ｃ】

Ab Name	エピトープドメイン	VL蛋白質	VL配列
6275	3	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVSSNLAWYQQKPGQAPRLLIYGASTRATGIPARFSGSGSGTEFTL TISSLQSEDFAVYYCQQLFLWPPRTFGGGTKVEIK	307
6279	3	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVSSNLAWYQQKPGQAPRLLIYGASTRATGIPARFSGSGSGTEFTL TISSLQSEDFAVYYCQQLLLWPPRTFGGGTKVEIK	308
6276	3	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVSSNLAWYQQKPGQAPRLLIYGASTRATGIPARFSGSGSGTEFTL TISSLQSEDFAVYYCQQLILWPPRTFGGGTKVEIK	306
5888	3	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVSSNLAWYQQKPGQAPRLLIYGASTRATGIPARFSGSGSGTEFTL TISSLQSEDFAVYYCQQLILWPPRTFGGGTKVEIK	306
5894	3	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVGSNLAWYQQKPGQAPRLLIYGASTRATGIPARFSGSGSGTEFTL TISSLQSEDFAVYYCQQLYTWPPRTFGGGTKVEIK	304
5543	3	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTL TISSLEPEDFAVYYCQQAYVWPPRTFGGGTKVEIK	311
5643	3	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTL TISSLEPEDFAVYYCQQSLTWPPRTFGGGTKVEIK	312
5644	3	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASKRATGIPARFSGSGSGTDFTL TISSLEPEDFAVYYCQQVYTWPPRTFGGGTKVEIK	313
5896	3	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTL TISSLEPEDFAVYYCQQSLTWPPRTFGGGTKVEIK	312
5902	3	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASKRATGIPARFSGSGSGTDFTL TISSLEPEDFAVYYCQQVYTWPPRTFGGGTKVEIK	313
5903	3	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASKRATGIPARFSGSGSGTDFTL TISSLEPEDFAVYYCQQVYTWPPRTFGGGTKVEIK	313
6290	3	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASKRATGIPARFSGSGSGTDFTL TISSLEPEDFAVYYCQQVYTWPPRTFGGGTKVEIK	313

【図２４Ｄ】

Ab Name	エピトープビン	VL 蛋白質	VL 配列
6291	3	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASKRATGIPARFSGSGSGTDFTL TISSLEPEDFAVYYCQQVYTWPPRTFGGGTKVEIK	314
6293	3	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASKRATGIPARFSGSGSGTDFTL TISSLEPEDFAVYYCQQVYTWPPRTFGGGTKVEIK	313
6289	3	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTL TISSLEPEDFAVYYCQQSLTWPPRTFGGGTKVEIK	312
5747	3	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTL TISSLEPEDFAVYYCQQVYLWPPRTFGGGTKVEIK	315
5982	3	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWFQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTL TISSLEPEDFAVYYCQQVYWPPRTFGGGTKVEIK	316
5985	3	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWFQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTL TISSLEPEDFAVYYCQQVYWPPRTFGGGTKVEIK	316
5983	3	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWFQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTL TISSLEPEDFAVYYCQQVYWPPRTFGGGTKVEIK	316
5984	3	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWFQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTL TISSLEPEDFAVYYCQQVYWPPRTFGGGTKVEIK	316
5986	3	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWFQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTL TISSLEPEDFAVYYCQQVYWPPRTFGGGTKVEIK	316
6296	3	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWFQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTL TISSLEPEDFAVYYCQQVYWPPRTFGGGTKVEIK	316
5897	3	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTL TISSLEPEDFAVYYCQQSLTWPPRTFGGGTKVEIK	312
5905	3	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASKRATGIPARFSGSGSGTDFTL TISSLEPEDFAVYYCQQVYTWPPRTFGGGTKVEIK	313
6311	3	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTL TISSLEPEDFAVYYCQQSLTWPPRTFGGGTKVEIK	312

【図２４Ｅ】

Ab Name	エピトープビン	VL 蛋白質	VL 配列
6309	3	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTL TISSLEPEDFAVYYCQQSITWPPRTFGGGTKVEIK	317
6310	3	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTL TISSLEPEDFAVYYCQQSVTWPPRTFGGGTKVEIK	318
6308	3	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASKRATGIPARFSGSGSGTDFTL TISSLEPEDFAVYYCQQSLWPPRTFGGGTKVEIK	319
5990	3	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASRSVNSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASKRATGIPARFSGSGSGTDFTL TISSLEPEDFAVYYCQQVYTWPPRTFGGGTKVEIK	320
6307	3	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTL TISSLEPEDFAVYYCQQSTWPPRTFGGGTKVEIK	321
5931	3	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASKRATGIPARFSGSGSGTDFTL TISSLEPEDFAVYYCQQVTWPPRTFGGGTKVEIK	313
6298	3	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWFQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTL TISSLEPEDFAVYYCQQVYWPPRTFGGGTKVEIK	316
5930	3	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVGSNLAWYQQKPGQAPRLLIYGASTRATGIPARFSGSGSGTEFTL TISSLQSEDFAVYYCQQLYTWPPRTFGGGTKVEIK	304
5988	3	GIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVGSNLAWYQQKPGQAPRLLIYGASTRATGIPARFSGSGSGTEFTL TISSLQSEDFAVYYCQQLYTWPPRTFGGGTKVEIK	322
6299	3	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVGSNLAWYQQKPGQAPRLLIYGASTRATGIPARFSGSGSGTEFTL TISSLQSEDFAVYYCQQSYLWPPRTFGGGTKVEIK	305
6300	3	EIVLTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVGSNLAWYQQKPGQAPRLLIYGASTRATGIPARFSGSGSGTEFTL TISSLQSEDFAVYYCQQSFLWPPRTFGGGTKVEIK	323
6305	3	EIVLTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVGSNLAWYQQKPGQAPRLLIYGASTRATGIPARFSGSGSGTEFTL TISSLQSEDFAVYYCQQSFWPPRTFGGGTKVEIK	324
5987	3	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVSSNLAWYQQKPGQAPRLLIYGASTRATGIPARFSGSGSGTEFTL TISSLQSEDFAVYYCQQLFLWPPRTFGGGTKVEIK	307

【図２４Ｆ】

Ab Name	エピトープビン	VL 蛋白質	VL 配列
6303	3	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVSSNLAWYQQKPGQAPRLLIFGASTRATGIPARFSGSGSGTEFTL TISSLQSEDFAVYYCQQLLTWPPRTFGGGTKVEIK	325
6266	3	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVSSNLAWYQQKPGQAPRLLIYGASTRATGIPARFSGSGSGTEFTL TISSLQSEDFAVYYCQQLILWPPRTFGGGTKVEIK	306
6271	3	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVSSNLAWYQQKPGQAPRLLIYGASTRATGIPARFSGSGSGTEFTL TISSLQSEDFAVYYCQQLILWPPRTFGGGTKVEIK	306
6297	3	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWFQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTL TISSLEPEDFAVYYCQQVYWPPRTFGGGTKVEIK	316
6294	3	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASKRATGIPARFSGSGSGTDFTL TISSLEPEDFAVYYCQQVYTWPPRTFGGGTKVEIK	313
5932	3	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASKRATGIPARFSGSGSGTDFTL TISSLEPEDFAVYYCQQVYTWPPRTFGGGTKVEIK	313
6313	3	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTL TISSLEPEDFAVYYCQQAYWPPRTFGGGTKVEIK	311
6314	3	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTL TISSLEPEDFAVYYCQQSIWPPRTFGGGTKVEIK	321
6315	3	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASKRATGIPARFSGSGSGTDFTL TISSLEPEDFAVYYCQQSLWPPRTFGGGAKVEIK	326
5933	3	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASKRATGIPARFSGSGSGTDFTL TISSLEPEDFAVYYCQQVYTWPPRTFGGGTKVEIK	314
6285	3	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASSRATGIPARFSGSGSGTDFTL TISSLEPEDFAVYYCQQSLTWPPRTFGGGTKVEIK	327
6280	3	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTL TISSLEPEDFAVYYCQQSLTWPPRTFGGGTKVEIK	312
6288	3	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTL TISSLEPEDFAVYYCQQSLTWPPRTFGGGTKVEIK	312
5539	3	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCQQPLSHPRTFGGGTKVEIK	328

【図２５Ａ】

	Ｏｃｔｅｔ親和性測定値				
Ab Name	KDヒト IgG, pH 7.5 (M)	KDマウス IgG, pH 7.5 (M)	KDヒト IgG, pH 5.0 (M)	KDマウス IgG, pH 5.0 (M)	KD (M) Biacore
5260	9.40E-08	9.40E-08	1.20E-07	1.80E-07	1.45E-08
5531	7.60E-08	4.20E-08	W.B.	W.B.	1.23E-07
5532	7.60E-08	4.80E-08	W.B.	W.B.	1.30E-07
5536	1.50E-08	2.20E-08	1.70E-08	6.80E-09	P.F.
5539	7.90E-08	1.10E-07	W.B.	W.B.	3.05E-08
5543	2.60E-08	2.40E-08	4.80E-08	4.00E-08	7.01E-09
5571	5.00E-09	5.40E-09	8.20E-09	8.40E-09	7.31E-09
5572	8.60E-10	2.50E-09	1.50E-09	2.00E-09	2.82E-09
5583	7.80E-08	5.10E-08	W.B.	W.B.	8.18E-08
5586	1.10E-07	1.20E-07	1.80E-07	1.80E-06	P.F.
5592	5.90E-08	3.80E-08	W.B.	W.B.	1.05E-07
5643	9.60E-09	1.00E-08	2.00E-08	1.70E-08	1.06E-08
5644	1.50E-08	1.70E-08	1.20E-08	1.10E-08	1.33E-08
5747	3.3E-09	2.20E-09	3.0E-9	3.1E-09	
5874	3.30E-08	2.20E-08	P.F.	2.00E-07	1.30E-09
5875	3.20E-08	2.20E-08	5.00E-08	1.20E-07	1.94E-09
5876	9.40E-09	9.70E-09	3.10E-08	4.30E-08	7.20E-10
5878	2.50E-09	2.70E-09	1.10E-08	1.40E-08	3.60E-08
5880	1.00E-09	1.20E-09	4.50E-09	6.10E-09	6.55E-08
5881	2.60E-09	2.40E-09	1.10E-08	1.50E-08	7.92E-09
5883	4.60E-09	6.60E-09	8.70E-09	1.10E-08	6.04E-09
5884	9.20E-10	1.30E-09	1.40E-09	2.00E-09	2.62E-09
5884*	4.6E-10	4.90E-10	8.6E-10	1.3E-09	5.23E-09
5887	1.10E-09	1.40E-09	2.20E-09	2.30E-09	3.58E-09

【図２５Ｂ】

Ab Name	KDヒト-IgG, pH 7.5 (M)	KDマウス-IgG, pH 7.5 (M)	KDヒト-IgG, pH 5.0 (M)	KDマウス-IgG, pH 5.0 (M)	KD (M) Biacore
5887*	4.5E-10	5.40E-10	1.4E-9	1.8E-09	7.08E-09
5888	8.60E-10	1.40E-09	1.80E-09	2.00E-09	4.25E-09
5890	5.50E-10	1.00E-09	6.40E-10	7.90E-10	3.22E-09
5891	6.50E-10	1.40E-09	9.60E-10	1.10E-09	3.29E-09
5892	8.80E-10	1.30E-09	3.90E-10	1.10E-09	2.97E-09
5893	3.30E-10	9.80E-10	3.80E-10	7.30E-10	2.76E-09
5894	2.70E-10	8.60E-10	3.00E-10	6.50E-10	2.95E-09
5894*	<3.8E-10	<4.0E-10	<2.7E-10	<3.8E-10	
5896	1.90E-09	2.90E-09	3.00E-09	3.10E-09	3.40E-09
5896*	7.1E-10	8.00E-10	1.1E-9	1.00E-09	5.18E-09
5897	9.50E-10	1.10E-09	8.20E-10	8.20E-10	2.07E-09
5902	3.90E-09	5.30E-09	1.40E-09	1.50E-09	3.28E-09
5903	1.60E-09	1.50E-09	8.60E-10	7.60E-10	8.65E-09
5903*	5.3E-10	5.10E-10	<3.4E-10	<4.3E-10	2.41E-09
5905	1.30E-09	1.40E-09	1.10E-09	1.10E-09	3.53E-09
5905*	5.1E-10	4.00E-10	2.7E-10	3.8E-10	
5930	<2.9E-10	<3.E-10	<2.3E-10	<2.9.E-10	6.41E-09
5931	<2.2E-10	<2.3E-10	<2.2E-10	<2.8E-10	
5932	3.1E-10	<3E-10	<2.3E-10	<3E-10	
5933	3.2E-10	<2.4E-10	<2.0E-10	<2.4E-10	
5982	2.9E-09	2.00E-09	2.3E-9	2.3E-09	
5983	3.5E-10	<2.4E-10	3.4E-10	3.4E-20	
5984	4.3E-10	3.60E-10	3.4E-10	3.7E-10	
5985	8.7E-10	6.50E-10	6.8E-10	8.1E-10	
5986	7.8E-10	5.40E-10	<2.4E-10	<2.7E-10	

【図２５Ｃ】

Ab Name	KDヒト-IgG, pH 7.5 (M)	KDマウス-IgG, pH 7.5 (M)	KDヒト-IgG, pH 5.0 (M)	KDマウス-IgG, pH 5.0 (M)	KD (M) Biacore
5987	<3.2E-10	<2.9E-10	<2.5E-10	<2.9E-10	
5988	<2.9E-10	<2.9E-10	<2.5E-10	<2.9E-10	
5990	<1.8E-10	<1.8E-10	<1.8E-10	<2.3E-10	
6266	<3E-10	<3.1E-10	<2.4E-10	3.2E-10	1.12E-09
6270	<2.9E-10	<4.0E-10	<2.9E-10	<4.1E-10	4.64E-09
6271	<3.1E-10	<3.1E-10	<2.4E-10	<3.1E-10	
6272	<8.7E-10	<4.1E-10	<3.9E-10	<4.0E-10	
6273	<3.9E-10	<3.9E-10	<2.6E-10	<4.0E-10	
6274	<3.7E-10	<3.7E-10	5.3E-10	7.6E-10	4.18E-09
6275	<4.8E-10	<4.9E-10	<3.4E-10	<3.7E-10	2.68E-09
6276	<5.9E-10	<6.2E-10	<4.1E-10	<5.4E-10	
6279	<4.5E-10	<4.6E-10	<3.6E-10	<4.3E-10	2.11E-09
6280	<3.2E-10	<3.2E-10	3.10E-10	<3.1E-10	
6285	3.2E-10	<2.8E-10	4.3E-10	4.1E-10	
6288	<2.1E-10	<2.3E-10	<2.1E-10	2.8E-10	4.79E-09
6289	3.7E-10	2.80E-10	3.9E-10	3.8E-10	7.37E-09
6290	<2.6E-10	<2.7E-10	<2.3E-10	<2.7E-10	3.19E-09
6291	<2.8E-10	<2.6E-10	<2.6E-10	<3.0E-10	
6293	<2.8E-10	<2.8E-10	<2.8E-10	<2.8E-10	8.26E-09
6294	<3E-10	<3.0E-10	<2.7E-10	<3.4E-10	
6296	2.8E-10	<2.4E-10	2E-10	<2.4E-10	3.29E-09
6297	4E-10	<2.6E-10	2.8E-10	3.2E-10	3.87E-09
6298	3.9E-10	4.60E-10	3.2E-10	4.0E-10	
6299	<4.1E-10	<4.1E-10	<2.8E-10	<4.6E-10	5.82E-09
6300	<8E-10	<6.8E-10	<3.4E-10	<4.0E-10	

【図２５Ｄ】

Ab Name	KDヒト-IgG, pH 7.5 (M)	KDマウス-IgG, pH 7.5 (M)	KDヒト-IgG, pH 5.0 (M)	KDマウス-IgG, pH 5.0 (M)	KD (M) Biacore
6303	<3.2E-10	<3.5E-10	<2.6E-10	<3.2E-10	3.09E-09
6305	5.3E-10	5.60E-10	9.6E-10	1.6E-09	
6307	<1.4E-10	<1.5E-10	<1.3E-10	<1.7E-10	
6308	<1.4E-10	<1.5E-10	<1.4E-10	<1.7E-10	
6309	3.4E-10	3.20E-10	3.5E-10	3.7E-10	
6310	4.6E-10	4.70E-10	4.4E-10	5.0E-10	1.63E-09
6311	2.5E-10	2.40E-10	2.0E-10	2.1E-10	
6313	4.1E-10	2.70E-10	<2.1E-10	<2.4E-10	
6314	3.8E-10	3.30E-10	<2.2E-10	<2.6E-10	
6315	<2.5E-10	<2.6E-10	<2.1E-10	<2.5E-10	

^３０分と１２０分の解離実験の混合
*２つの別々のアッセイ分析で測定された抗体KD
P.F. = 適合不良／報告なしKD
W.B. = 弱い結合／適合なし

【図２６】

Ab Name	低分子基質アッセイ ヒトBACE1 (% inhibition)	低分子基質アッセイ ヒトBACE1 (std. error, n = 4)	低分子基質アッセイ マウスBACE1 (% inhibition)	低分子基質アッセイ マウスBACE1 (std. error, n = 4)
5260	-54%	-10%	-35%	-8%
5531	61%	4%	57%	9%
5532	56%	5%	50%	8%
5536	32%	3%	30%	15%
5539	42%	4%	23%	3%
5543	61%	4%	61%	9%
5571	-89%	-17%	-175%	-16%
5572	75%	4%	77%	9%
5583	44%	8%	34%	8%
5586	41%	6%	51%	7%
5592	63%	4%	60%	8%
5643	-64%	-16%	-20%	-8%
5644	65%	4%	63%	9%
5874	37%	12%	33%	8%
5875	51%	4%	39%	8%
5876	58%	4%	46%	8%
5878	99%	5%	98%	10%
5880	99%	5%	97%	10%
5881	97%	5%	98%	10%
5883	-129%	-9%	-275%	-30%
5884	-102%	-6%	-243%	-25%
5887	-102%	-12%	-230%	-18%
5888	-86%	-9%	-183%	-25%
5890	66%	7%	69%	9%
5891	71%	6%	70%	9%
5892	64%	4%	64%	9%
5893	72%	4%	69%	9%
5894	69%	4%	69%	9%
5896	-4%	-8%	-3%	-10%
5897	1%	4%	-3%	-12%
5902	66%	5%	66%	9%
5903	68%	4%	69%	9%
5905	65%	7%	72%	9%

【図２７Ａ】

	HTRF長いβ基質			FRET短いβ基質		
Ab Name	Data Mode	EC50 (M)	|dS|	Data Mode	EC50 (M)	|dS|
5260	decreasing	7.20E-07	106.2	decreasing	3.68E-08	55.62
5531	decreasing	1.51E-07	103.1	decreasing	2.12E-08	68.54
5532	decreasing	1.04E-07	100.7	decreasing	5.23E-08	94.59
5536	decreasing	5.78E-10	84.97	N.D.		
5539	decreasing	6.94E-10	92.22	N.D.		
5543	decreasing	3.00E-08	92.94	decreasing	9.11E-09	84.7
5571	decreasing	5.06E-09	91.95	increasing	4.17E-10	78.38
5572	decreasing	1.28E-09	89.17	decreasing	1.59E-08	69.75
5583	decreasing	1.72E-07	87.25	decreasing	9.72E-09	72.74
5586	decreasing	2.39E-09	97.3	N.D.		
5592	decreasing	1.89E-07	96.02	decreasing	9.59E-08	94.72
5643	decreasing	1.77E-08	107.7	decreasing	1.41E-09	96.2
5644	decreasing	8.75E-09	115.6	decreasing	8.47E-09	80.43
5874	decreasing	3.97E-09	116.1	decreasing	7.98E-10	105.2
5875	decreasing	4.90E-09	116.1	decreasing	1.99E-09	100
5876	decreasing	1.67E-09	109.8	decreasing	7.03E-10	117.3
5878	decreasing	1.64E-07	103.3	decreasing	2.43E-08	69.49
5880	decreasing	1.71E-07	97.19	decreasing	7.88E-09	69.66
5881	decreasing	3.37E-08	110.1	decreasing	5.93E-09	83.91
5883	decreasing	5.93E-09	71.45	increasing	6.07E-10	117.2
5884	decreasing	7.76E-09	81.71	increasing	4.78E-10	91.84
5887	decreasing	5.50E-09	84.97	increasing	4.82E-10	103.6

【図２７Ｂ】

	HTRF長いβ基質			FRET短いβ基質		
Ab Name	Data Mode	EC50 (M)	|dS|	Data Mode	EC50 (M)	|dS|
5888	decreasing	2.50E-09	95.34	increasing	6.02E-10	101.3
5890	decreasing	4.06E-09	72.43	decreasing	3.24E-08	61.59
5891	decreasing	3.03E-09	80.77	decreasing	1.24E-08	47.16
5892	decreasing	1.19E-09	83.93	decreasing	1.64E-08	53.1
5893	decreasing	3.59E-09	78.29	decreasing	8.84E-09	62.99
5894	decreasing	1.79E-09	112.7	decreasing	8.58E-09	63.43
5896	decreasing	3.46E-09	102.4	decreasing	3.35E-09	86.98
5897	decreasing	1.39E-09	95.35	decreasing	5.28E-10	90.49
5902	decreasing	1.41E-09	81.24	decreasing	1.41E-09	89.02
5903	decreasing	1.38E-09	95.23	decreasing	3.12E-09	86.52
5905	decreasing	3.91E-09	78.64	decreasing	1.33E-09	89.42

N．D．：未決定

【図２８Ａ】

Ab Name	IC50 (nM)	阻害率（%）
5260	46.7	74
5531	阻害不良	
5532	阻害不良	
5536	42.39	84
5539	17.59	45
5543	18.3	65
5571	7.11	84
5572	27.1	73
5583	阻害不良	
5586	阻害不良	
5592	阻害不良	
5643	9.71	60
5644	8.33	72
5747	25.55	74
5874	阻害不良	
5875	阻害不良	
5876	阻害不良	
5878	阻害不良	
5880	阻害不良	
5881	阻害不良	
5883	9.11	82
5884	4.56	83
5884*	3.51	75
5887	1.74	75
5887*	2.53	82
5888	1.79	82
5890	8.45	77
5891	18	78
5892	9.52	73
5893	9.46	73
5894	6.48	78
5894*	5.43	73
5896	2.7	65
5896*	5.72	67
5897	0.30	62
5902	1.59	67

【図２８Ｂ】

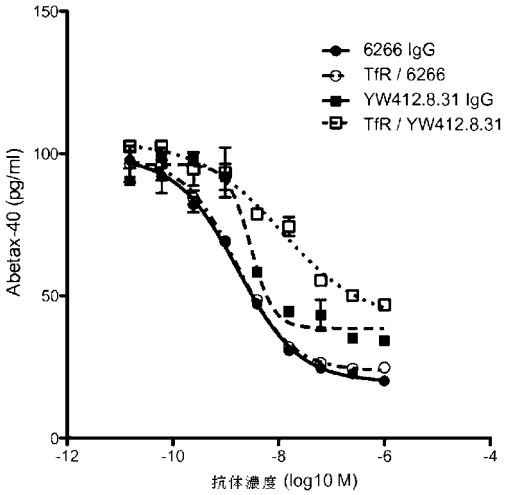
Ab Name	IC50 (nM)	阻害率（%）
5903	1.63	72
5903*	7.27	73
5905	0.33	65
5905*	0.83	73
5930	7.52	74
5931	0.91	69
5932	6.26	57
5933	3.60	67
5982	27.34	71
5983	7.34	72
5984	22.61	70
5985	阻害不良	73
5986	5.42	67
5987	7.20	69
5988	3.55	75
5990	0.53	61
6266	1.66	87
6270	4.48	85
6271	1.77	83
6272	43.61	82
6273	5.71	82
6274	4.82	85
6275	1.27	71
6276	7.40	81
6279	6.23	71
6280	8.29	65
6285	15.44	57
6288	11.00	67
6289	5.21	74
6290	3.17	63
6291	1.41	68
6293	0.88	75
6294	3.53	59
6296	7.92	62
6297	3.89	63
6298	1.95	67

【図２８Ｃ】

Ab Name	IC50 (nM)	阻害率（%）
6299	10.44	70
6300	9.10	71
6303	4.10	76
6305	9.69	67
6307	0.45	68
6308	0.68	60
6309	0.30	60
6310	0.17	71
6311	0.15	63
6313	2.78	67
6314	3.38	71
6315	適合不良	73

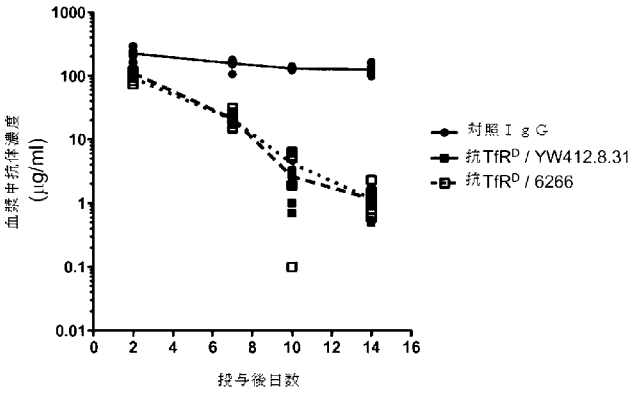
*2つの別々のアッセイ分析で測定された抗体による阻害

【図２９】

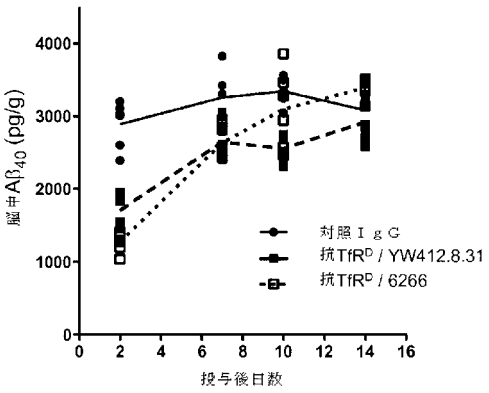


	YW412.8.31		6266	
	IgG	Bispec	IgG	Bispec
最大阻害率 (%)	62	54	79	74
IC_{50} (M)	2.9E-09	11E-09	1.7E-09	1.6E-09

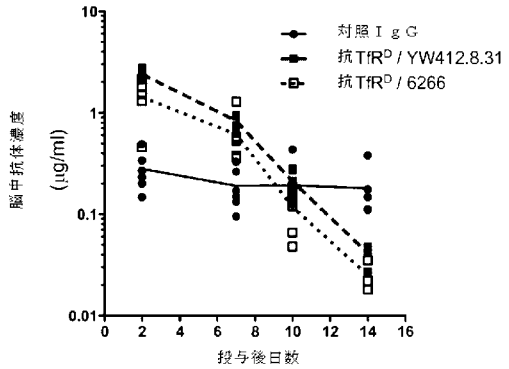
【図３０】



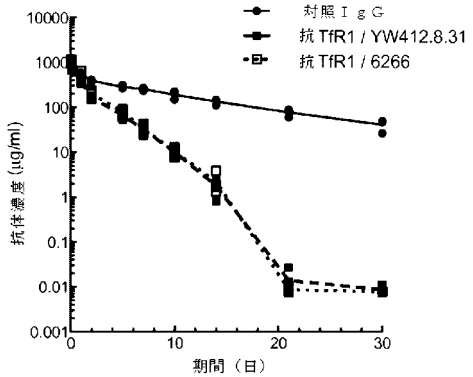
【図３１Ｂ】



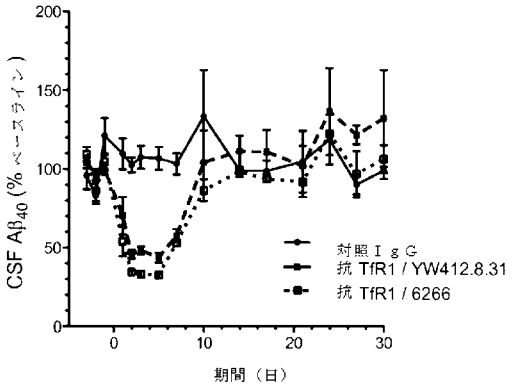
【図３１Ａ】



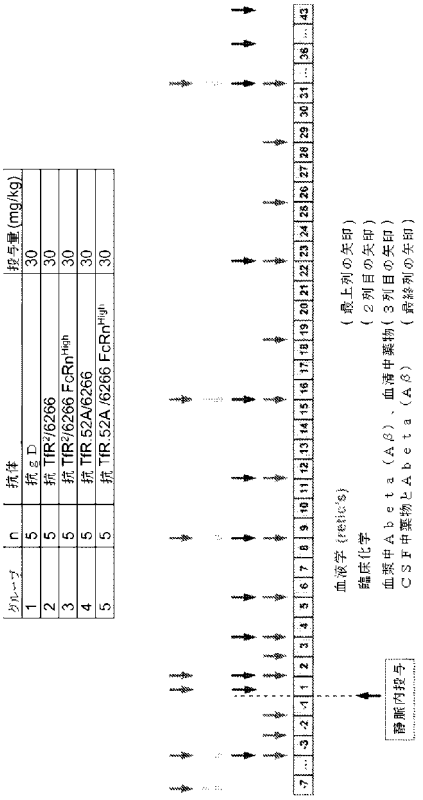
【図３２Ａ】



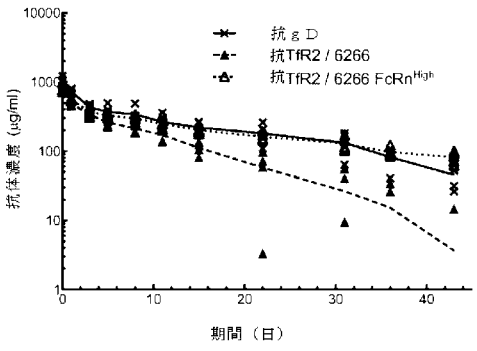
【図３２Ｂ】



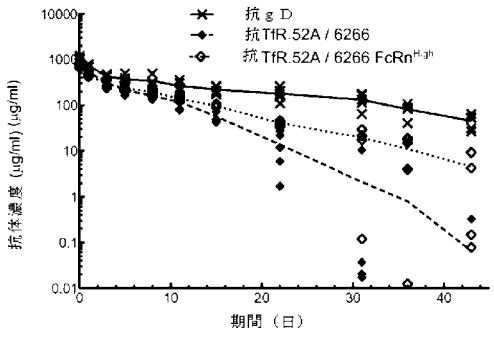
【図３３】



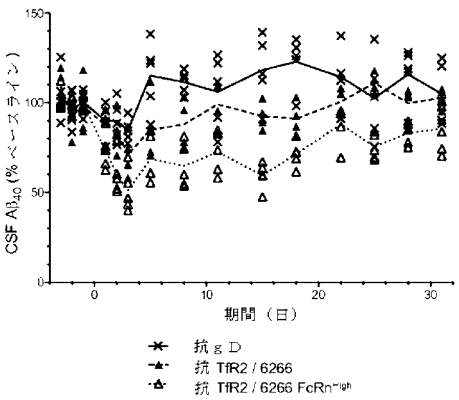
【図３４Ａ】



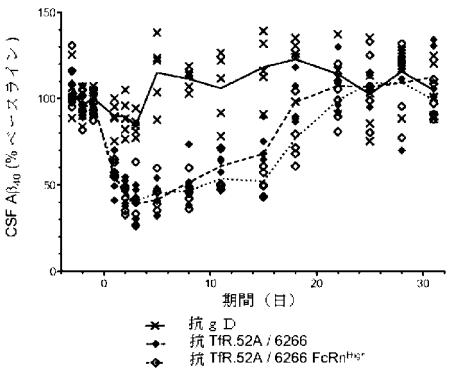
【図３４Ｂ】



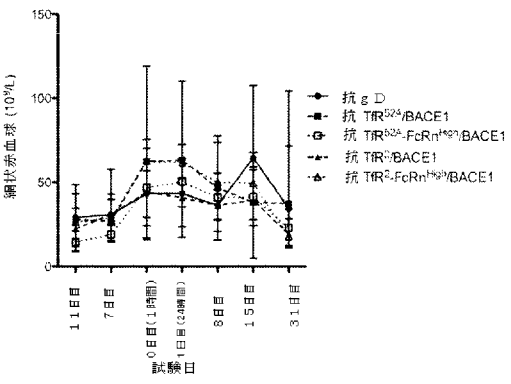
【図３５Ａ】



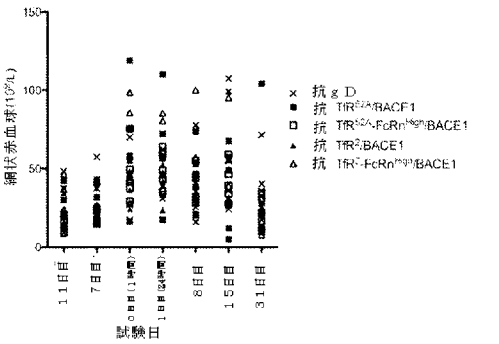
【図３５Ｂ】



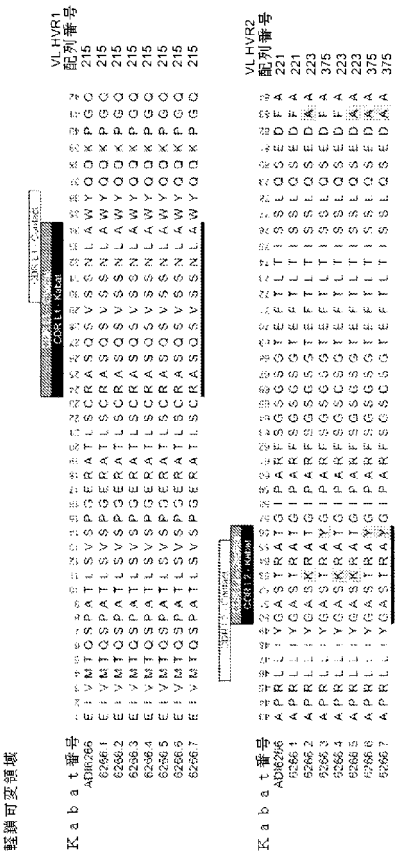
【図３６Ａ】



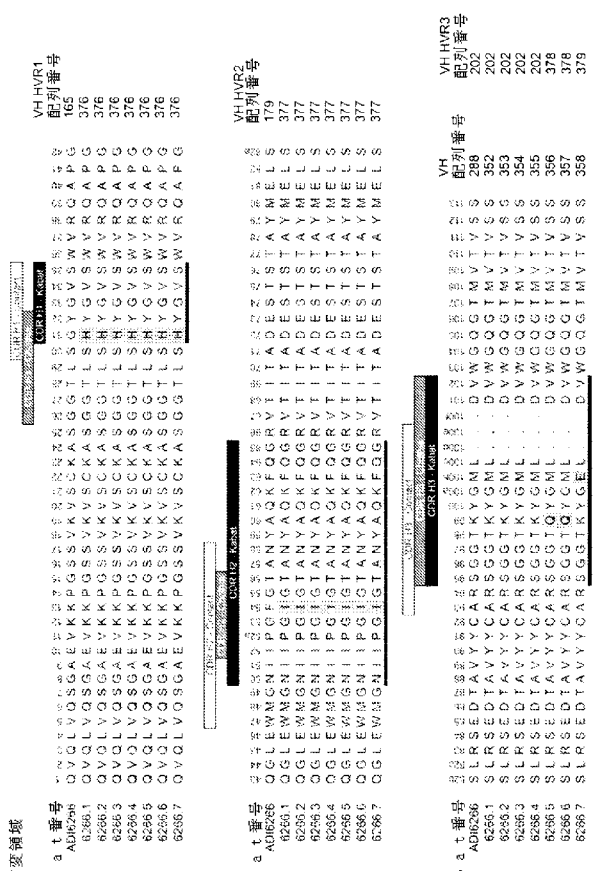
【図３６Ｂ】



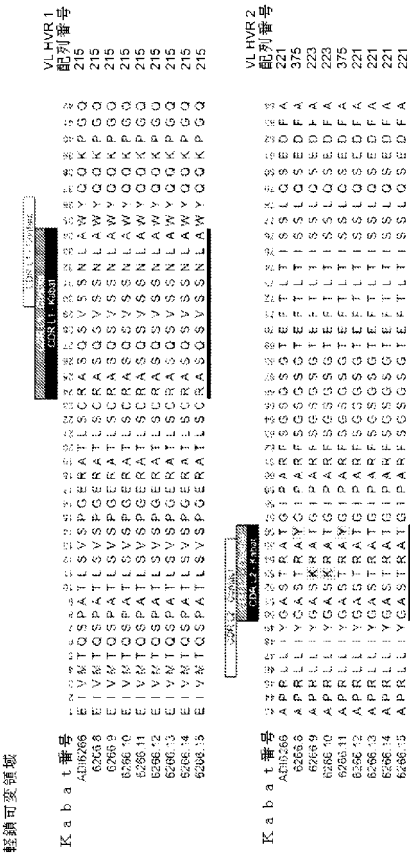
【図３７Ａ】



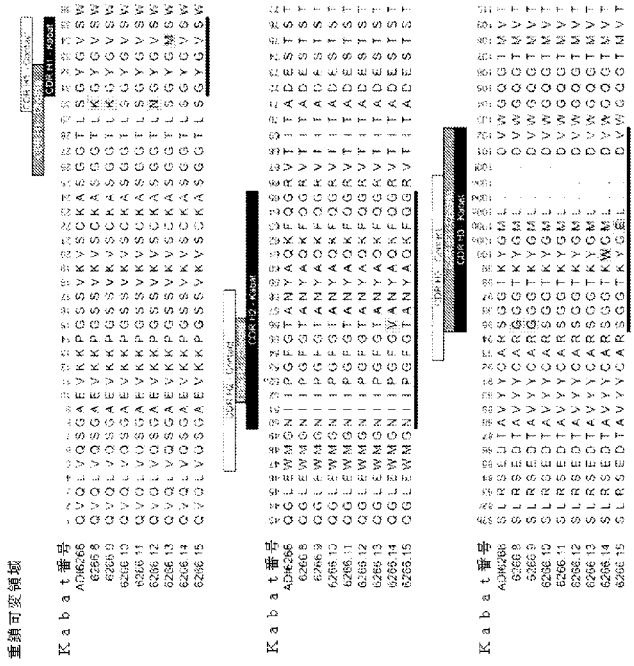
【図３７Ｂ】



【図３８Ａ】



【図３８Ｂ】



【図３９】

クローン	変異	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (nM)	Tm (°C)
6266wt		3.71E+05	4.03E-04	1.09	69.2
6266.1	G31H.F54I	6.54E+05	1.61E-04	0.24	72.8
6266.2	G31H.F54I.T53K.F83A	2.45E+05	1.42E-04	0.58	74.2
6266.3	G31H.F54I.T56Y	4.80E+05	1.42E-04	0.29	73
6266.4	G31H.F54I.T53K	6.38E+05	1.70E-04	0.26	72.4
6266.5	G31H.F54I.K99Q.T53K.F83A	4.28E+05	2.28E-04	0.53	73.8
6266.6	G31H.F54I.K99Q.T56Y.F83A	3.56E+05	2.78E-04	0.78	72
6266.7	G31H.F54I.M100bE.T56Y.F83A	5.42E+05	3.33E-04	0.62	73.2
6266.8	S30K.S95G.T56Y	4.88E+05	2.75E-04	0.56	n/a
6266.9	S30K.S95G.T53K	4.45E+05	3.05E-04	0.68	n/a
6266.10	T53K	7.56E+05	5.06E-04	0.69	72.8
6266.11	T56Y	8.91E+05	4.10E-04	0.46	69
6266.12	S30N	8.54E+05	4.47E-04	0.52	72.2
6266.13	V34M	7.34E+05	4.11E-04	0.56	70.8
6266.14	T56V.Y100W	8.39E+05	4.74E-04	0.57	69.2
6266.15	M100bE	7.74E+05	4.95E-04	0.64	69.8

【配列表】

2018505652000001.app

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2015/061402

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. C07K16/28 C07K16/40 C07K16/46 C12N15/13 A61K39/395
A61P25/00
ADD.
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)
C07K A61K

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

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
EPO-Internal, EMBASE, BIOSIS, Sequence Search, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	WO 2013/177062 A2 (GENENTECH INC [US]; HOFFMANN LA ROCHE [CH]) 28 November 2013 (2013-11-28) page 6, line 20 - line 21; claims 1, 92, 93, 95-105, 110, 116, 117, 121 page 56, line 10 - line 12 -----	1-100
Y	WO 2012/075037 A1 (GENENTECH INC [US]; HOFFMANN LA ROCHE [CH]; DENNIS MARK [US]; WATTS RY) 7 June 2012 (2012-06-07) page 6, line 20; claims 1, 41,45, 46 ----- -/--	1-100

[X] Further documents are listed in the continuation of Box C. [X] 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	Date of mailing of the international search report
17 February 2016	01/03/2016

Name and mailing address of the ISA/	Authorized officer
European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016	Saame, Tina

3

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2015/061402

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. [X] forming part of the international application as filed:

      [X] 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 13*ter*.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 13*ter*.1(a)).

      [ ] on paper or in the form of an image file (Rule 13*ter*.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/US2015/061402

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	YU Y JOY ET AL: "Boosting brain uptake of a therapeutic antibody by reducing its affinity for a transcytosis target", SCIENCE TRANSLATIONAL MEDICINE, AAAS - AMERICAN ASSOCIATION FOR THE ADVANCEMENT OF SCIENCE, US, vol. 3, no. 84 84ra44, 25 May 2011 (2011-05-25), pages 1-8, XP008148394, ISSN: 1946-6242, DOI: 10.1126/SCITRANSLMED.3002230 figures 2,5	1-100
Y	PAUL STEVEN M: "Therapeutic antibodies for brain disorders", SCIENCE TRANSLATIONAL MEDICINE, AAAS - AMERICAN ASSOCIATION FOR THE ADVANCEMENT OF SCIENCE, US, vol. 3, no. 84, 25 May 2011 (2011-05-25), page 84ps20, XP009155720, ISSN: 1946-6242 figure 1	1-100
Y	COUCH JESSICA A ET AL: "Addressing safety liabilities of TfR bispecific antibodies that cross the blood-brain barrier", SCIENCE TRANSLATIONAL MEDICINE, AAAS - AMERICAN ASSOCIATION FOR THE ADVANCEMENT OF SCIENCE, US, vol. 5, no. 183, 1 May 2013 (2013-05-01), XP008163922, ISSN: 1946-6242, DOI: 10.1126/SCITRANSLMED.3005338 abstract	1-100
Y	S. SOPPER ET AL: "Lymphocyte subsets and expression of differentiation markers in blood and lymphoid organs of rhesus monkeys", CYTOMETRY, vol. 29, no. 4, 1 December 1997 (1997-12-01), pages 351-362, XP055132941, ISSN: 0196-4763, DOI: 10.1002/(SICI)1097-0320(19971201)29:4<351::AID-CYTO12>3.3.CO;2-6 abstract; table 1	1-100

-/--

3

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2015/061402

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	ATWAL JASVINDER K ET AL: "A therapeutic antibody targeting BACE1 inhibits amyloid-[beta] production in vivo", SCIENCE TRANSLATIONAL MEDICINE, AAAS - AMERICAN ASSOCIATION FOR THE ADVANCEMENT OF SCIENCE, US, vol. 3, no. 84, 25 May 2011 (2011-05-25), XP009155719, ISSN: 1946-6242 page 10, column 1, paragraph 1; figure 6 abstract -----	1-100
X,P	WO 2014/189973 A2 (GENENTECH INC [US]; HOFFMANN LA ROCHE [CH]) 27 November 2014 (2014-11-27) examples 2,3 -----	1-100

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No
PCT/US2015/061402

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2013177062 A2	28-11-2013	AU 2013266611 A1	11-12-2014
		CA 2873929 A1	28-11-2013
		CL 2014003161 A1	27-02-2015
		CN 104520325 A	15-04-2015
		CO 7151532 A2	29-12-2014
		EP 2852618 A2	01-04-2015
		HK 1206369 A1	08-01-2016
		JP 2015523336 A	13-08-2015
		KR 20150014503 A	06-02-2015
		PH 12014502602 A1	02-02-2015
		SG 11201407669Q A	30-12-2014
		TW 201400132 A	01-01-2014
		US 2015353639 A1	10-12-2015
		WO 2013177062 A2	28-11-2013
WO 2012075037 A1	07-06-2012	AR 084020 A1	17-04-2013
		AU 2011336716 A1	09-05-2013
		CA 2818173 A1	07-06-2012
		CL 2013001535 A1	07-03-2014
		CN 103443125 A	11-12-2013
		CO 6721052 A2	31-07-2013
		CR 20130255 A	18-09-2013
		EA 201390785 A1	29-11-2013
		EC SP13012724 A	30-08-2013
		EP 2646470 A1	09-10-2013
		JP 2014500886 A	16-01-2014
		KR 20130137654 A	17-12-2013
		MA 34749 B1	03-12-2013
		PE 09812014 A1	20-08-2014
		SG 190900 A1	31-07-2013
		TW 201305200 A	01-02-2013
		US 2012171120 A1	05-07-2012
		US 2015329636 A1	19-11-2015
		WO 2012075037 A1	07-06-2012
WO 2014189973 A2	27-11-2014	AU 2014268726 A1	19-11-2015
		CA 2908743 A1	27-11-2014
		SG 11201509566R A	30-12-2015
		TW 201500373 A	01-01-2015
		US 2015110791 A1	23-04-2015
		WO 2014189973 A2	27-11-2014

Form PCT/ISA/210 (patent family annex) (April 2005)

フロントページの続き

(51)Int.Cl.			FI			テーマコード（参考）
C12N	*1/15*	*(2006.01)*	C12N	1/15		4H045
C12N	*1/21*	*(2006.01)*	C12N	1/21		
C12N	*1/19*	*(2006.01)*	C12N	1/19		
C12N	*5/10*	*(2006.01)*	C12N	5/10		
G01N	*33/53*	*(2006.01)*	G01N	33/53	D	
A61K	*39/395*	*(2006.01)*	A61K	39/395	N	
A61K	*45/00*	*(2006.01)*	A61K	45/00		
A61K	*38/22*	*(2006.01)*	A61K	38/22		
A61K	*33/26*	*(2006.01)*	A61K	33/26		
A61K	*31/375*	*(2006.01)*	A61K	31/375		
A61K	*31/519*	*(2006.01)*	A61K	31/519		
A61K	*31/714*	*(2006.01)*	A61K	31/714		
A61P	*7/06*	*(2006.01)*	A61P	7/06		
A61P	*43/00*	*(2006.01)*	A61P	43/00	121	
A61P	*25/00*	*(2006.01)*	A61P	25/00		
A61P	*25/28*	*(2006.01)*	A61P	25/28		
A61P	*27/06*	*(2006.01)*	A61P	27/06		
A61P	*21/04*	*(2006.01)*	A61P	21/04		
A61P	*21/00*	*(2006.01)*	A61P	21/00		
A61P	*25/16*	*(2006.01)*	A61P	43/00	105	
A61P	*3/00*	*(2006.01)*	A61P	25/16		
A61P	*25/20*	*(2006.01)*	A61P	3/00		
A61P	*25/14*	*(2006.01)*	A61P	25/20		
			A61P	25/14		

(81)指定国 AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,RS,SE,SI,SK,SM,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,KM,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,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,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

（特許庁注：以下のものは登録商標）
１．ＵＮＩＸ

(72)発明者 リウ, イーチン
アメリカ合衆国 カリフォルニア ９４０８０, サウス サンフランシスコ, ディーエヌエー ウェイ １
(72)発明者 アトウォル, ジャスビンダル
アメリカ合衆国 カリフォルニア ９４０８０, サウス サンフランシスコ, ディーエヌエー ウェイ １
(72)発明者 チウ, セシリア プイ チー
アメリカ合衆国 カリフォルニア ９４０８０, サウス サンフランシスコ, ディーエヌエー ウェイ １
(72)発明者 ワッツ, ライアン ジェー.
アメリカ合衆国 カリフォルニア ９４０８０, サウス サンフランシスコ, ディーエヌエー

ウェイ　１
(72)発明者　ウー，　イェン
アメリカ合衆国　カリフォルニア　９４０８０，　サウス　サンフランシスコ，　ディーエヌエー　ウェイ　１
(72)発明者　クラウランド，　エリック
アメリカ合衆国　ニューハンプシャー　０３７６６，　レバノン，　ルーセント　ドライブ　７
(72)発明者　フェルトハウス，　マイケル
アメリカ合衆国　ニューハンプシャー　０３７６６，　レバノン，　ルーセント　ドライブ　７
(72)発明者　チャン，　イン
アメリカ合衆国　カリフォルニア　９４０８０，　サウス　サンフランシスコ，　ディーエヌエー　ウェイ　１
(72)発明者　ズッケロ，　ジョイ　ユイ
アメリカ合衆国　カリフォルニア　９４０８０，　サウス　サンフランシスコ，　ディーエヌエー　ウェイ　１
(72)発明者　カウチ，　ジェシカ
アメリカ合衆国　カリフォルニア　９４０８０，　サウス　サンフランシスコ，　ディーエヌエー　ウェイ　１
(72)発明者　デニス，　マーク　エス.
アメリカ合衆国　カリフォルニア　９４０８０，　サウス　サンフランシスコ，　ディーエヌエー　ウェイ　１
(72)発明者　アーンスト，　ジェームズ　エー.
アメリカ合衆国　カリフォルニア　９４０８０，　サウス　サンフランシスコ，　ディーエヌエー　ウェイ　１
(72)発明者　ラザール，　グレゴリー　エー.
アメリカ合衆国　カリフォルニア　９４０８０，　サウス　サンフランシスコ，　ディーエヌエー　ウェイ　１

Ｆターム(参考)　4B064 AG27 BJ12 CA02 CA06 CA10 CA11 CA19 CC24 DA01
4B065 AB01 AC14 BA02 CA25 CA44
4C084 AA02 AA03 AA19 BA44 DB56 NA14 ZA011 ZA021 ZA051 ZA151
ZA161 ZA221 ZA331 ZA551 ZA941 ZB211 ZC211 ZC411 ZC751
4C085 AA14 AA16 BB11 CC23 DD62 EE01
4C086 AA01 BA18 CB09 DA39 HA11 MA03 MA05 NA14 ZA01 ZA02
ZA05 ZA15 ZA16 ZA22 ZA33 ZA55 ZA94 ZB21 ZC21 ZC41
ZC75
4H045 DA76 EA20