

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号

特表2023-550628

(P2023-550628A)

(43)公表日 令和5年12月4日(2023.12.4)

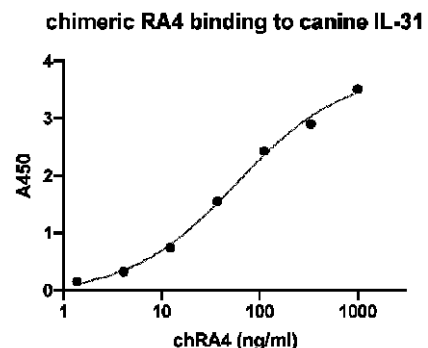
(51)国際特許分類		F I		テーマコード (参考)	
C 1 2 N	15/13 (2006.01)	C 1 2 N	15/13		4 B 0 6 5
C 0 7 K	16/24 (2006.01)	C 0 7 K	16/24	Z N A	4 C 0 8 4
C 1 2 N	1/15 (2006.01)	C 1 2 N	1/15		4 C 0 8 5
C 1 2 N	1/19 (2006.01)	C 1 2 N	1/19		4 C 0 8 7
C 1 2 N	1/21 (2006.01)	C 1 2 N	1/21		4 H 0 4 5
		審査請求	未請求	予備審査請求	未請求 (全57頁) 最終頁に続く
(21)出願番号	特願2023-530833(P2023-530833)	(71)出願人	523114257	スカウト バイオ, インコーポレイテッド アメリカ合衆国 ペンシルベニア 191 03, フィラデルフィア, エヌ. 1 8ティーエイチ ストリート 100, スイート 300	
(86)(22)出願日	令和3年11月22日(2021.11.22)	(74)代理人	100078282		
(85)翻訳文提出日	令和5年7月20日(2023.7.20)	(74)代理人	弁理士 山本 秀策		
(86)国際出願番号	PCT/US2021/060369	(74)代理人	100113413		
(87)国際公開番号	WO2022/109403	(74)代理人	弁理士 森下 夏樹		
(87)国際公開日	令和4年5月27日(2022.5.27)	(74)代理人	100181674	最終頁に続く	
(31)優先権主張番号	63/117,383	(74)代理人	弁理士 飯田 貴敏		
(32)優先日	令和2年11月23日(2020.11.23)	(74)代理人	100181641		
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)	(74)代理人	弁理士 石川 大輔		
(81)指定国・地域	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,A T,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR ,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC, 最終頁に続く	(74)代理人	230113332		

(54)【発明の名称】 抗原結合分子およびその使用

(57)【要約】

本開示は、インターロイキン-31 (IL-31) に特異的に結合する抗原結合分子であって、免疫グロブリン重鎖可変ドメインおよび免疫グロブリン軽鎖可変ドメインを含む抗原結合分子に関する。本開示は、少なくとも部分的には、天然のIL-31に特異的に結合することができ、そのフレームワーク領域が、天然のIL-31に対する結合特異性および選択性を失うことなく標的種との適合性のために改変され得る相補性決定領域 (CDR) を含む抗IL-31結合分子に基づく。

Figure 1



【特許請求の範囲】

【請求項 1】

インターロイキン-31 (IL-31) に特異的に結合する抗原結合分子であって、前記抗原結合分子は、免疫グロブリン重鎖可変ドメイン (VH) および免疫グロブリン軽鎖可変ドメイン (VL) を含み、前記 VH は、配列番号 6 のアミノ酸配列またはそれと少なくとも 80% の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む相補性決定領域 1 (VH CDR 1) と、配列番号 7 のアミノ酸配列またはそれと少なくとも 80% の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む VH CDR 2 と、配列番号 8 のアミノ酸配列またはそれと少なくとも 80% の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む VH CDR 3 とを含み；前記 VL は、配列番号 9 のアミノ酸配列またはそれと少なくとも 80% の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む相補性決定領域 1 (VL CDR 1) と、配列番号 10 のアミノ酸配列またはそれと少なくとも 80% の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む VL CDR 2 と、配列番号 11 のアミノ酸配列またはそれと少なくとも 80% の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む VL CDR 3 とを含み、前記 CDR のアミノ酸配列は IMGT ナンバリングに基づく、抗原結合分子。

10

【請求項 2】

配列番号 1 のアミノ酸残基 L29、Y32、Q33 および P40 を含む イヌ IL-31 のエピトープに特異的に結合する抗原結合分子。

【請求項 3】

配列番号 1 の イヌ IL-31 への結合について、請求項 1 または請求項 2 に記載の抗原結合分子と競合する抗原結合分子。

20

【請求項 4】

前記 VH が、配列番号 6 のアミノ酸配列を含む VH CDR 1 と、配列番号 7 のアミノ酸配列を含む VH CDR 2 と、配列番号 8 のアミノ酸配列を含む VH CDR 3 とを含み；前記 VL が、配列番号 9 のアミノ酸配列を含む VL CDR 1 と、配列番号 10 のアミノ酸配列を含む VL CDR 2 と、配列番号 11 のアミノ酸配列を含む VL CDR 3 とを含む、請求項 1～3 のいずれか一項に記載の抗原結合分子。

【請求項 5】

前記 VH が、配列番号 6 のアミノ酸配列からなる VH CDR 1 と、配列番号 7 のアミノ酸配列からなる VH CDR 2 と、配列番号 8 のアミノ酸配列からなる VH CDR 3 とを含み；前記 VL が、配列番号 9 のアミノ酸配列からなる VL CDR 1 と、配列番号 10 のアミノ酸配列からなる VL CDR 2 と、配列番号 11 のアミノ酸配列からなる VL CDR 3 とを含む、請求項 4 に記載の抗原結合分子。

30

【請求項 6】

IL-31 への結合について、(i) 配列番号 1 のアミノ酸位置 13、15、20 および 26 に対応する IL-31 の領域に特異的に結合する IL-31 結合分子、または (ii) 配列番号 1 のアミノ酸位置 76、77、80、81 および 84 に対応する IL-31 の領域に特異的に結合する IL-31 結合分子と競合しない、請求項 1～5 のいずれか一項に記載の抗原結合分子。

【請求項 7】

前記分子が、イヌ化、ネコ化またはウマ化抗原結合分子である、請求項 1～6 のいずれか一項に記載の抗原結合分子。

40

【請求項 8】

前記分子が、イヌ化抗原結合分子である、請求項 7 に記載の抗原結合分子。

【請求項 9】

前記イヌ化抗原結合分子が、

(i) 以下を含む重鎖可変ドメイン (VH)：

(a) 配列番号 18、22、26、30 および 34 からなる群より選択される重鎖可変ドメインフレームワーク領域 1 (VHFR1) アミノ酸配列に対して少なくとも 80% の配列同一性を有する VHFR1 アミノ酸配列、

50

(b) 配列番号 19、23、27、31 および 35 からなる群から選択される V H F R 2 アミノ酸配列に対して少なくとも 80% の配列同一性を有する V H F R 2 アミノ酸配列、

(c) 配列番号 20、24、27、32 および 36 からなる群から選択される V H F R 3 アミノ酸配列に対して少なくとも 80% の配列同一性を有する V H F R 3 アミノ酸配列、ならびに

(d) 配列番号 21、25、28、33 および 37 からなる群から選択される V H F R 4 アミノ酸配列に対して少なくとも 80% の配列同一性を有する V H F R 4 アミノ酸配列；および／または

(i i) 以下を含む軽鎖可変ドメイン (V L)：

(e) 配列番号 38、42、46 および 50 からなる群より選択される重鎖可変ドメインフレームワーク領域 1 (V L F R 1) アミノ酸配列に対して少なくとも 80% の配列同一性を有する V L F R 1 アミノ酸配列、

(f) 配列番号 39、43、47 および 51 からなる群から選択される V L F R 2 アミノ酸配列に対して少なくとも 80% の配列同一性を有する V L F R 2 アミノ酸配列、

(g) 配列番号 40、44、48 および 52 からなる群から選択される V L F R 3 アミノ酸配列に対して少なくとも 80% の配列同一性を有する V L F R 3 アミノ酸配列、ならびに

(h) 配列番号 41、45、49 および 53 からなる群から選択される V H F R 4 アミノ酸配列に対して少なくとも 80% の配列同一性を有する V L F R 4 アミノ酸配列

を含む、請求項 8 に記載の抗原結合分子。

【請求項 10】

前記イヌ化抗原結合分子が、

(i) 以下を含む重鎖可変ドメイン (V H)：

(i) 配列番号 81 または配列番号 85 の重鎖可変ドメインフレームワーク領域 1 (V H F R 1) アミノ酸配列に対して少なくとも 80% の配列同一性を有する V H F R 1 アミノ酸配列、

(j) 配列番号 82 または配列番号 86 の V H F R 2 アミノ酸配列に対して少なくとも 80% の配列同一性を有する V H F R 2 アミノ酸配列、

(k) 配列番号 83 または配列番号 87 の V H F R 3 アミノ酸配列に対して少なくとも 80% の配列同一性を有する V H F R 3 アミノ酸配列、ならびに

(l) 配列番号 84 または配列番号 88 の V H F R 4 アミノ酸配列に対して少なくとも 80% の配列同一性を有する V H F R 4 アミノ酸配列；および／または

(i i) 以下を含む軽鎖可変ドメイン (V L)：

(m) 配列番号 89 の重鎖可変ドメインフレームワーク領域 1 (V L F R 1) アミノ酸配列に対して少なくとも 80% の配列同一性を有する V L F R 1 アミノ酸配列、

(n) 配列番号 90 の V L F R 2 アミノ酸配列に対して少なくとも 80% の配列同一性を有する V L F R 2 アミノ酸配列、

(o) 配列番号 91 の V L F R 3 アミノ酸配列に対して少なくとも 80% の配列同一性を有する V L F R 3 アミノ酸配列、ならびに

(p) 配列番号 92 の V H F R 4 アミノ酸配列に対して少なくとも 80% の配列同一性を有する V L F R 4 アミノ酸配列

を含む、請求項 8 に記載の抗原結合分子。

【請求項 11】

前記重鎖可変ドメイン (V H) が、配列番号 99 または配列番号 100 の V H アミノ酸配列に対して少なくとも 80% の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、請求項 8 に記載の抗原結合分子。

【請求項 12】

前記軽鎖可変ドメイン (V L) が、配列番号 101 の V L アミノ酸配列に対して少なくとも 80% の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、請求項 8 に記載の抗原結合分子。

10

20

30

40

50

【請求項 13】

前記分子が、ネコ化抗原結合分子である、請求項 7 に記載の抗原結合分子。

【請求項 14】

前記ネコ化抗原結合分子が、

(i) 以下を含む重鎖可変ドメイン (VH) :

(a) 配列番号 54 の重鎖可変ドメインフレームワーク領域 1 (VHFR1) アミノ酸配列に対して少なくとも 80 % の配列同一性を有する VHFR1 アミノ酸配列、

(b) 配列番号 55 の VHFR2 アミノ酸配列に対して少なくとも 80 % の配列同一性を有する VHFR2 アミノ酸配列、

(c) 配列番号 56 の VHFR3 アミノ酸配列に対して少なくとも 80 % の配列同一性を有する VHFR3 アミノ酸配列、ならびに

(d) 配列番号 57 の VHFR4 アミノ酸配列に対して少なくとも 80 % の配列同一性を有する VHFR4 アミノ酸配列; および/または

(ii) 以下を含む軽鎖可変ドメイン (VL) :

(e) 配列番号 58 の軽鎖可変ドメインフレームワーク領域 1 (VLF R1) アミノ酸配列に対して少なくとも 80 % の配列同一性を有する VLF R1 アミノ酸配列、

(f) 配列番号 59 の VLF R2 アミノ酸配列に対して少なくとも 80 % の配列同一性を有する VLF R2 アミノ酸配列、

(g) 配列番号 60 の VLF R3 アミノ酸配列に対して少なくとも 80 % の配列同一性を有する VLF R3 アミノ酸配列、ならびに

(h) 配列番号 61 の VHFR4 アミノ酸配列に対して少なくとも 80 % の配列同一性を有する VLF R4 アミノ酸配列

を含む、請求項 13 に記載の抗原結合分子。

【請求項 15】

前記抗原結合分子が抗体またはその IL-31 結合断片である、請求項 1 ~ 14 のいずれか一項に記載の抗原結合分子。

【請求項 16】

前記 IL-31 結合断片が、Fab 断片、scFab、Fab'、一本鎖可変断片 (scFv) および 1 アーム抗体からなる群から選択される、請求項 15 に記載の抗原結合分子。

【請求項 17】

前記抗原結合分子が、イヌ、ネコまたはウマ免疫グロブリン分子の重鎖定常領域および/または軽鎖定常領域を含む、請求項 1 ~ 16 のいずれか一項に記載の抗原結合分子。

【請求項 18】

前記免疫グロブリン分子がネコ免疫グロブリンである、請求項 17 に記載の抗原結合分子。

【請求項 19】

前記ネコ免疫グロブリン分子が、IgG1a、IgG1b および IgG2 からなる群から選択される、請求項 18 に記載の抗原結合分子。

【請求項 20】

前記免疫グロブリン分子がイヌ免疫グロブリン分子である、請求項 17 に記載の抗原結合分子。

【請求項 21】

前記イヌ免疫グロブリン分子が、IgGA、IgGB、IgGC および IgGD からなる群より選択される、請求項 20 に記載の抗原結合分子。

【請求項 22】

前記イヌ免疫グロブリン分子がイヌ IgGA である、請求項 21 に記載の抗原結合分子。

【請求項 23】

前記イヌ免疫グロブリン分子が、配列番号 2 のアミノ酸配列、またはそれと少なくとも

10

20

30

40

50

80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、請求項22に記載の抗原結合分子。

【請求項24】

前記抗体が、配列番号16のアミノ酸配列またはそれと少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む重鎖を含む、請求項22または請求項23に記載の抗原結合分子。

【請求項25】

前記抗体が、配列番号17のアミノ酸配列またはそれと少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む軽鎖を含む、請求項22～24のいずれか一項に記載の抗原結合分子。

【請求項26】

請求項1～25のいずれか一項に記載の抗原結合分子をコードする核酸配列を含む単離された核酸分子。

【請求項27】

請求項26に記載の核酸配列を含む発現構築物。

【請求項28】

請求項27に記載の発現構築物を含む宿主細胞。

【請求項29】

請求項1～25のいずれか一項に記載の抗原結合分子をコードする核酸配列を含むベクター。

【請求項30】

前記ベクターがAAVベクターである、請求項29に記載のベクター。

【請求項31】

請求項1～25のいずれか一項に記載の抗原結合分子と、薬学的に許容され得る担体とを含む医薬組成物。

【請求項32】

請求項1～25のいずれか一項に記載の抗原結合分子、請求項29もしくは請求項30に記載のベクター、または請求項31に記載の医薬組成物を含むキット。

【請求項33】

IL-31の発現の増加および／または活性の増加に関連する状態を処置または予防する方法であって、請求項1～25のいずれか一項に記載の抗原結合分子、請求項29もしくは請求項30に記載のベクター、または請求項31に記載の医薬組成物を、投与することを必要とする対象に投与することを含む方法。

【請求項34】

IL-31の発現の増加および／または活性の増加に関連する前記状態が、掻痒症および皮膚炎からなる群から選択される、請求項33に記載の方法。

【請求項35】

前記状態がアトピー性皮膚炎である、請求項34に記載の方法。

【請求項36】

前記状態が掻痒症である、請求項34に記載の方法。

【請求項37】

IL-31によって増殖が誘導される腫瘍およびそれに関連する状態を処置または予防する方法であって、請求項1～25のいずれか一項に記載の抗原結合分子、請求項29もしくは請求項30に記載のベクター、または請求項31に記載の医薬組成物を、投与することを必要とする対象に投与することを含む方法。

【請求項38】

前記対象が、イヌ、ネコおよびウマからなる群より選択される、請求項33～37のいずれか一項に記載の方法。

【請求項39】

IL-31の発現の増加および／または活性の増加に関連する状態の処置または予防を必要とする対象における、IL-31の発現の増加および／または活性の増加に関連する

10

20

30

40

50

状態の処置または予防のための医薬の製造における、請求項 1～25 のいずれか一項に記載の抗原結合分子または請求項 29 もしくは請求項 30 に記載のベクターの使用。

【請求項 40】

IL-31 の発現の増加および／または活性の増加に関連する前記状態が、掻痒症および皮膚炎からなる群から選択される、請求項 39 に記載の使用。

【請求項 41】

前記状態がアトピー性皮膚炎である、請求項 40 に記載の使用。

【請求項 42】

前記状態が掻痒症である、請求項 40 に記載の使用。

【請求項 43】

IL-31 によって増殖が誘導される腫瘍およびそれに関連する状態の処置または予防を必要とする対象における、IL-31 によって増殖が誘導される腫瘍およびそれに関連する状態の処置または予防のための医薬の製造における、請求項 1～25 のいずれか一項に記載の抗原結合分子または請求項 29 もしくは請求項 30 に記載のベクターの使用。

【請求項 44】

前記対象が、イヌ、ネコおよびウマからなる群より選択される、請求項 39～43 のいずれか一項に記載の使用。

【請求項 45】

IL-31 の発現の増加および／または活性の増加に関連する状態の処置または予防を必要とする対象における、IL-31 の発現の増加および／または活性の増加に関連する状態の処置または予防において使用するための、請求項 1～25 のいずれか一項に記載の抗原結合分子、請求項 29 もしくは請求項 30 に記載のベクター、または請求項 31 に記載の医薬組成物。

【請求項 46】

IL-31 の発現の増加および／または活性の増加に関連する前記状態が、掻痒症および皮膚炎からなる群から選択される、請求項 45 に記載の使用のための抗原結合分子、ベクター、または医薬組成物。

【請求項 47】

前記状態がアトピー性皮膚炎である、請求項 46 に記載の使用のための抗原結合分子、ベクター、または医薬組成物。

【請求項 48】

前記状態が掻痒症である、請求項 46 に記載の使用のための抗原結合分子、ベクター、または医薬組成物。

【請求項 49】

IL-31 によって増殖が誘導される腫瘍およびそれに関連する状態の処置または予防を必要とする対象における、IL-31 によって増殖が誘導される腫瘍およびそれに関連する状態の処置または予防において使用するための、請求項 1～25 のいずれか一項に記載の抗原結合分子、請求項 29 もしくは請求項 30 に記載のベクター、または請求項 31 に記載の医薬組成物。

【請求項 50】

前記対象が、イヌ、ネコおよびウマからなる群より選択される、請求項 45～49 のいずれか一項に記載の使用のための抗原結合分子、ベクター、または医薬組成物。

【請求項 51】

IL-31 に対する免疫応答を引き起こすことができる免疫原性組成物であって、前記組成物が、(i) IL-31 の B 細胞エпитープを含む免疫原と、(ii) 薬学的に許容され得る担体とを含み、前記 B 細胞エпитープが、配列番号 1 のアミノ酸位置 29～40 に対応するアミノ酸配列、またはそれと少なくとも 80 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、前記免疫原が、天然の IL-31 分子のアミノ酸配列を含まない、免疫原性組成物。

【請求項 52】

前記免疫原が、配列番号 1 のアミノ酸位置 29～40 に対応するアミノ酸配列、またはそれと少なくとも 80 % の配列同一性を有するアミノ酸配列からなる、請求項 51 に記載の免疫原性組成物。

【請求項 53】

前記免疫原が、配列番号 1 のアミノ酸位置 29～40 に対応するアミノ酸配列からなる、請求項 51 に記載の免疫原性組成物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連出願

本出願は、2020 年 11 月 23 日に提出された米国仮出願第 63 / 117, 383 号の優先権および利益を主張する。前述の特許出願の内容は、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【0002】

発明の分野

本発明は、一般に、抗原結合分子に関する。特に、本発明は、インターロイキン 31 (IL-31) に特異的に結合し、その活性を中和する抗原結合分子、ならびに、異常な IL-31 の発現および／または活性に関連する状態、例えば、慢性炎症、アトピー性皮膚炎、湿疹、掻痒症 (pruritis)、気道過敏症および炎症性腸症候群の処置のためのその使用に関する。

【0003】

配列表

本出願は、EFS-Web を介して ASCII 形式で提出された配列表を含み、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。2021 年 11 月 22 日に作成された上記 ASCII コピーの名称は「SCTB-012-01WO__SeqList__ST25.txt」であり、サイズは 61 KB である。

【背景技術】

【0004】

背景

本明細書で引用される任意の特許または特許出願を含むすべての参考文献は、本発明の完全な理解を可能にするために参照により本明細書に組み込まれる。それにもかかわらず、そのような参考文献は、これらの文献のいずれかが、オーストラリアまたは他の国における当該技術分野の共通の一般知識の一部を形成することの承認を構成するものとして読まれるべきではない。

【0005】

Sinem Bagci および Ruzicka (2018, J. Allergy Clin. Immunol. ; 141 (3) : 858-866) によって論じられているように、IL-31 は、多くのヒト組織において発現されるサイトカインであり、Th2 に偏った炎症応答に関与している。IL-31 は、IL-31 受容体 α および オンコスタチン M 受容体 β からなる受容体複合体を介してシグナル伝達する。研究により、IL-31 はアトピー性湿疹などの慢性掻痒性皮膚障害と強く関連しており、指向性薬物治療の新規な標的であることが示されている。

【0006】

IL-31 は、糖タンパク質 130 (gp130) / IL-6 サイトカインファミリーに属し、これには、白血病抑制因子、オンコスタチン M (OSM)、カルジオトロフィン-1、毛様体神経栄養因子、カルジオトロフィン様サイトカイン、IL-6 および IL-11 も含まれる。このファミリーのメンバーは、それらの多単位受容体において gp130 の共通鎖を共有し、ニューロン成長、骨代謝、心臓発達、および T 細胞分化などの免疫調節に関与する。ヒトでは、IL-31 をコードする遺伝子は、染色体 12q24.31 上に位置し、164 アミノ酸の前駆体をコードするオープンリーディングフレームと、4

10

20

30

40

50

a-ヘリックス構造を含む予測141アミノ酸の成熟ポリペプチドとから構成される。IL-31はまた、非皮膚科学的状態、例えば、アレルギー性喘息および鼻炎、炎症性腸疾患、悪性腫瘍（例えば、がん）および骨粗鬆症に関与している。

【0007】

治療的観点から、IL-31シグナル伝達の遮断を調べる最初のヒト試験の1つを、ヒト化抗ヒトIL-31RAモノクローナル抗体であるネモリズマブ（CIM331）を用いて健康な対象およびアトピー性皮膚炎患者において行った。この研究は、単一皮下用量のネモリズマブが掻痒および局所ステロイドの使用についての視覚的アナログスケール（VAS）スコアを有意に低下させ、同様にまた、睡眠効率を増加させることを示したが、プラセボを投与された患者と比較して、特にネモリズマブを投与された患者において、アトピー性皮膚炎および末梢浮腫の悪化を含む有害事象の報告があった。

10

したがって、過剰なIL-31レベルおよび／または活性に関連する状態、例えば掻痒症ならびに他の皮膚科学的および非皮膚科学的状態を処置するための改善された治療戦略が依然として緊急に必要とされている。

【先行技術文献】

【非特許文献】

【0008】

【非特許文献1】Sinem BagciおよびRuzicka, 2018, J. Allergy Clin. Immunol. ; 141 (3) : 858-866

【発明の概要】

20

【課題を解決するための手段】

【0009】

概要

本開示は、少なくとも部分的には、天然のIL-31に特異的に結合することができ、そのフレームワーク領域が、天然のIL-31に対する結合特異性および選択性を失うことなく標的種との適合性のために改変され得る相補性決定領域（CDR）を含む抗IL-31結合分子に基づく。したがって、本明細書中に開示されるIL-31結合分子は、異常なIL-31レベルおよび／または活性に関連する状態（その実例としては掻痒症およびアトピー性皮膚炎が挙げられる）の処置および予防における使用に適している。

【0010】

30

したがって、本明細書に開示される態様では、インターロイキン-31（IL-31）に特異的に結合する抗原結合分子であって、抗原結合分子は、免疫グロブリン重鎖可変ドメイン（VH）および免疫グロブリン軽鎖可変ドメイン（VL）を含み、VHは、配列番号6のアミノ酸配列またはそれと少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む相補性決定領域1（VH CDR1）と、配列番号7のアミノ酸配列またはそれと少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むVH CDR2と、配列番号8のアミノ酸配列またはそれと少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むVH CDR3とを含み；VLは、配列番号9のアミノ酸配列またはそれと少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む相補性決定領域1（VL CDR1）と、配列番号10のアミノ酸配列またはそれと少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むVL CDR2と、配列番号11のアミノ酸配列またはそれと少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むVL CDR3とを含み、CDRのアミノ酸配列はIMGTナンバリングに基づく、抗原結合分子が提供される。

40

【0011】

本開示はまた、本明細書中に開示されるIL-31結合分子が、既知の抗IL-31抗体分子の結合領域として特定されていないイヌIL-31の領域に特異的に結合するという本発明者の発見に少なくとも部分的に基づく。したがって、本明細書に開示される別の態様では、IL-31への結合について、（i）配列番号1のアミノ酸位置13、15、20および26に対応するIL-31の領域に特異的に結合するIL-31結合分子、または（ii）配列番号1のアミノ酸位置76、77、80、81および84に対応するI

50

IL-31の領域に特異的に結合するIL-31結合分子と競合しない抗原結合分子が提供される。

【0012】

本開示はまた、本明細書中に記載される抗原結合分子をコードする核酸配列（その重鎖配列および軽鎖配列ならびにそのIL-31結合断片が含まれる）にまで及ぶ。

【0013】

したがって、一態様では、本明細書に記載の抗原結合分子をコードする核酸配列を含む単離された核酸分子が提供される。

【0014】

本明細書に記載の抗原結合分子をコードする核酸配列を含む発現構築物も本明細書に開示される。核酸配列は、1またはそれを超える調節配列に作動可能に連結され得る。

【0015】

本開示はまた、本明細書に記載の発現構築物を含む宿主細胞にも及ぶ。

【0016】

本開示はまた、本明細書に記載の抗原結合分子をコードする核酸配列を含むベクターにも及ぶ。一実施形態では、ベクターはAAVベクターである。

【0017】

本開示はまた、本明細書に記載の抗原結合分子と、薬学的に許容され得る担体とを含む医薬組成物にも及ぶ。

【0018】

本明細書に開示される別の態様では、IL-31の発現の増加および／または活性の増加に関連する状態を処置または予防する方法であって、本明細書に記載の抗原結合分子、ベクター、または医薬組成物を、投与することを必要とする対象に投与することを含む方法が提供される。

【0019】

本開示はまた、本明細書に記載の抗原結合分子、ベクター、または医薬組成物を含むキットにも及ぶ。

【0020】

本明細書に開示される別の態様では、IL-31の発現の増加および／または活性の増加に関連する状態の処置または予防を必要とする対象における、IL-31の発現の増加および／または活性の増加に関連する状態の処置または予防のための医薬の製造における、本明細書に記載の抗原結合分子またはベクターの使用が提供される。

【0021】

本開示はまた、IL-31の発現の増加および／または活性の増加に関連する状態の処置または予防を必要とする対象における、IL-31の発現の増加および／または活性の増加に関連する状態の処置または予防において使用するための、本明細書に記載の抗原結合分子、ベクター、または医薬組成物にも及ぶ。

【0022】

本開示はまた、IL-31によって増殖が誘導される腫瘍およびそれに関連する状態の処置または予防を必要とする対象における、IL-31によって増殖が誘導される腫瘍およびそれに関連する状態の処置または予防において使用するための、本明細書に記載の抗原結合分子、ベクター、または医薬組成物にも及ぶ。

【0023】

本開示はまた、配列番号1のアミノ酸残基L29、Y32、Q33およびP40を含むイヌIL-31のエピトープに特異的に結合する抗原結合分子にも及ぶ。

【0024】

本開示はまた、配列番号1のイヌIL-31への結合について、本明細書に記載の抗原結合分子と競合する抗原結合分子にも及ぶ。

【0025】

本開示はまた、IL-31に対する免疫応答を引き起こすことができる免疫原性組成物

10

20

30

40

50

であって、組成物が、(i) IL-31のB細胞エピトープを含む免疫原と、(ii)薬学的に許容され得る担体とを含み、B細胞エピトープが、配列番号1のアミノ酸位置29～40に対応するアミノ酸配列、またはそれと少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、免疫原が、天然のIL-31分子のアミノ酸配列を含まない、免疫原性組成物にも及ぶ。

【図面の簡単な説明】

【0026】

以下、添付の図面を参照して、本発明の実施形態を非限定的な例としてのみ説明する。

【0027】

【図1】図1は、イヌIL-31に対するRA4の結合を示す。ELISAによって決定された、イヌIL-31に対するキメラモノクローナル抗体RA4(chRA4)の結合を示す用量反応曲線。示される結果は、バックグラウンドに対する特異的結合の405nmでの吸光度比である。

【0028】

【図2】図2は、イヌDH82細胞におけるイヌIL-31誘導性STAT-3リン酸化の阻害を示す。異なる濃度のchRA4モノクローナル抗体を、DH82細胞に添加する前にイヌIL-31とプレインキュベートした。これらのデータは、RA4が用量依存的様式でIL-31誘導性STAT-3リン酸化を強力に阻害し得ることを示す。観察されたIC50は1.5 μg/mLであった。

【0029】

【図3-1】図3は、ELISAによって決定された、イヌIL-31(caIL-31)、ネコIL-31(feIL-31)、イヌIL-31変異体1およびイヌIL-31変異体2に対する抗IL-31抗体chRA4、M14および34D03の結合を示す。データは、キメラRA4がイヌIL-31、ネコIL-31および2つのイヌIL-31変異体(変異体1および2)に等しく良好に結合することを示す。M14は、イヌIL-31およびイヌIL-31変異体1に結合するが、イヌIL-31変異体2には結合しない。ネコIL-31へのM14結合も減少した。34D03はまた、イヌIL-31およびより少ない程度ではネコIL-31に結合するが、イヌIL-31変異体タンパク質のいずれにも結合しなかった。

【図3-2】図3は、ELISAによって決定された、イヌIL-31(caIL-31)、ネコIL-31(feIL-31)、イヌIL-31変異体1およびイヌIL-31変異体2に対する抗IL-31抗体chRA4、M14および34D03の結合を示す。データは、キメラRA4がイヌIL-31、ネコIL-31および2つのイヌIL-31変異体(変異体1および2)に等しく良好に結合することを示す。M14は、イヌIL-31およびイヌIL-31変異体1に結合するが、イヌIL-31変異体2には結合しない。ネコIL-31へのM14結合も減少した。34D03はまた、イヌIL-31およびより少ない程度ではネコIL-31に結合するが、イヌIL-31変異体タンパク質のいずれにも結合しなかった。

【0030】

【図4】図4Aは、イヌ/ヒトキメラタンパク質ca/huIL-31_c123_h4、cahuIL-31_c12_h34およびcahuIL-31_c1_h234の概略図を示す。図4Bは、ELISAによって決定された、イヌIL-31(caIL-31)、ヒトIL-31(hIL-31)およびキメライヌ/ヒトIL-31タンパク質(c123_h4、c12_h34およびc1_h234)に結合するモノクローナル抗体RA4の用量応答曲線を示す。

【0031】

【図5A】図5Aは、イヌIL-31のN末端配列をカバーする一連の重複ペプチドの切断型の概略図を示す。

【図5B-1】図5Bは、ELISAによって決定された、全長イヌIL-31(Full ca IL-31)およびイヌIL-31のN末端に由来する重複ペプチドに対する

10

20

30

40

50

、R A 4ならびに2つの以前に記載された抗I L - 3 1モノクローナル抗体、M 1 4および3 4 D 0 3の結合を示す。

【図5 B - 2】図5 Bは、E L I S Aによって決定された、全長イヌI L - 3 1 (F u l l c a I L - 3 1) およびイヌI L - 3 1のN末端に由来する重複ペプチドに対する、R A 4ならびに2つの以前に記載された抗I L - 3 1モノクローナル抗体、M 1 4および3 4 D 0 3の結合を示す。

【0 0 3 2】

【図6】図6は、R A 4 m A b結合に重要なイヌI L - 3 1のN末端領域の残基の同定を示す。イヌI L - 3 1のN末端ドメインの25アミノ酸領域のアラニンスキャニングライブラリーを作製した。改変(アラニン置換)ペプチドのそれぞれへのR A 4 m A bの結合をE L I S Aによって評価した。改変ペプチドのそれぞれへの結合を、X軸の左端(イソロイシン)に対する一連の第1のペプチドへの結合に対して正規化した。

10

【0 0 3 3】

【図7】図7は、R A 4 m A bがイヌI L - 3 1のN末端の別個の固有の領域に結合することを示す。単一のアラニン置換または4つすべてのアラニン置換の組み合わせのいずれかを有する全長イヌI L - 3 1タンパク質を使用して、E L I S AによるR A 4 m A b (A) またはM 1 4 m A b (B) の結合を評価した。野生型イヌI L - 3 1 (c a I L - 3 1 ; 配列番号1) を対照として含めた。

【発明を実施するための形態】

【0 0 3 4】

20

詳細な説明

本明細書中の他の箇所に記載されるように、本開示は、少なくとも部分的には、天然のI L - 3 1に特異的に結合することができ、そのフレームワーク領域が、天然のI L - 3 1に対する結合特異性および選択性を失うことなく標的種との適合性のために改変され得る相補性決定領域(C D R)を含む抗I L - 3 1結合分子に基づく。したがって、本明細書中に開示されるI L - 3 1結合分子は、異常なI L - 3 1レベルおよび/または活性に関連する状態(その実例としては掻痒症およびアトピー性皮膚炎が挙げられる)の処置および予防における使用に適している。

【0 0 3 5】

したがって、本明細書に開示されるのは、インターロイキン-3 1 (I L - 3 1) に特異的に結合する抗原結合分子であって、抗原結合分子は、免疫グロブリン重鎖可変ドメイン(V H) および免疫グロブリン軽鎖可変ドメイン(V L) を含み、V Hは、配列番号6のアミノ酸配列またはそれと少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む相補性決定領域1 (V H C D R 1) と、配列番号7のアミノ酸配列またはそれと少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むV H C D R 2 と、配列番号8のアミノ酸配列またはそれと少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むV H C D R 3 とを含み; V Lは、配列番号9のアミノ酸配列またはそれと少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む相補性決定領域1 (V L C D R 1) と、配列番号10のアミノ酸配列またはそれと少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むV L C D R 2 と、配列番号11のアミノ酸配列またはそれと少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むV L C D R 3 とを含み、C D Rのアミノ酸配列はI M G Tナンバリングに基づく、抗原結合分子である。

30

40

【0 0 3 6】

本明細書に開示されるC D R配列は、特に明記しない限り、I M G Tナンバリングに基づく。

【0 0 3 7】

本開示はまた、本明細書中に開示されるI L - 3 1結合分子が、既知のI L - 3 1結合分子について特定されていないI L - 3 1の領域に特異的に結合するという本発明者らの発見に少なくとも部分的に基づく。したがって、本明細書に開示される態様では、I L - 3 1への結合について、(i) 配列番号1のアミノ酸位置13、15、20および26に

50

対応する I L - 3 1 の領域に特異的に結合する I L - 3 1 結合分子、または (i i) 配列番号 1 のアミノ酸位置 7 6、7 7、8 0、8 1 および 8 4 に対応する I L - 3 1 の領域に特異的に結合する I L - 3 1 結合分子と競合しない抗原結合分子が提供される。

【 0 0 3 8 】

「対応する」という用語は、配列番号 1 のイヌ I L - 3 1 ペプチド配列とアラインメントしたときに、配列番号 1 の残基とアラインメントするアミノ酸残基を含む I L - 3 1 ペプチド配列の領域を指す。例えば、配列番号 1 のアミノ酸位置 1 3、1 5、2 0 および 2 6 に対応する I L - 3 1 の領域は、配列番号 1 のイヌ I L - 3 1 ペプチド配列とアラインメントしたときに、配列番号 1 の位置 1 3、1 5、2 0 および 2 6 の残基とアラインメントするアミノ酸残基を含む I L - 3 1 ペプチド配列の領域を指す。同様に、配列番号 1 のアミノ酸位置 7 6、7 7、8 0、8 1、および 8 4 に対応する I L - 3 1 の領域は、配列番号 1 のイヌ I L - 3 1 ペプチド配列とアラインメントしたときに、配列番号 1 の位置 7 6、7 7、8 0、8 1、および 8 4 の残基とアラインメントするアミノ酸残基を含む I L - 3 1 ペプチド配列の領域を指す。

10

【 0 0 3 9 】

本明細書中の他の箇所に記載されるように、本発明者らはまた、本明細書中に開示される I L - 3 1 結合分子が、配列番号 1 のアミノ酸残基 L 2 9、Y 3 2、Q 3 3 および P 4 0 を含む I L - 3 1 のエピトープに結合することを見出した。したがって、配列番号 1 のアミノ酸残基 L 2 9、Y 3 2、Q 3 3 および P 4 0 を含むイヌ I L - 3 1 のエピトープに特異的に結合する抗原結合分子が本明細書に開示される。

20

【 0 0 4 0 】

本開示はまた、配列番号 1 のイヌ I L - 3 1 への結合について、本明細書に記載の抗原結合分子と競合する抗原結合分子にも及ぶ。

【 0 0 4 1 】

本明細書で使用される「競合する」という用語は、2 つまたはそれを超える抗原結合分子が抗原（例えば、I L - 3 1）への結合について競合することを示す。1 つの例示的なアッセイでは、I L - 3 1 を固体基材上にコーティングし、第 1 の抗原結合分子に結合させ、その後、第 2 の抗原結合分子を添加する。第 1 の抗原結合分子の存在が第 2 の抗原結合分子の I L - 3 1 への結合を低下させる場合、抗原結合分子は I L - 3 1 への結合について競合すると同定される。「競合する」という用語はまた、1 つの抗原結合分子が別の抗原結合分子の結合を減少させるが、抗原結合分子が逆の順序で添加された場合に競合が観察されない抗原結合分子の組み合わせを含む。しかし、いくつかの実施形態では、第 1 および第 2 の抗原結合分子は、それらが添加される順序にかかわらず、抗原への互いの結合を阻害する。一実施形態では、1 つの抗原結合分子は、別の抗原結合分子の抗原への結合を少なくとも 2 0 %、好ましくは少なくとも 3 0 %、好ましくは少なくとも 4 0 %、好ましくは少なくとも 5 0 %、好ましくは少なくとも 6 0 %、好ましくは少なくとも 7 0 %、好ましくは少なくとも 8 0 %、好ましくは少なくとも 9 0 %、またはより好ましくは少なくとも 9 5 % 低下させる。

30

【 0 0 4 2 】

本明細書で使用される「抗原結合分子」という用語は、標的抗原に対する結合特異性を有する分子を指す。この用語は、抗原結合活性を示す免疫グロブリン、免疫グロブリン断片および非免疫グロブリン由来タンパク質フレームワークに及ぶことが理解されよう。適切な抗原結合分子の実例としては、抗体およびその抗原結合断片が挙げられる。好ましくは、抗原結合分子は、その活性を中和するかまたは実質的に中和するように I L - 3 1 に特異的に結合する。「中和する」という用語は、抗原結合分子が I L - 3 1 に結合し、I L - 3 1 分子がその天然の受容体に結合する能力を阻害、低減、抑止、遮断または他の方法で防止することを意味すると理解される。いくつかの実施形態では、抗原結合分子は、抗原結合分子の非存在と比較した場合に I L - 3 1 活性が存在しないかまたは無視できる程度になるように、（インビボまたはインビトロで）I L - 3 1 の活性を完全に中和する。他の実施形態では、抗原結合分子は、抗原結合分子の非存在と比較した場合に I L - 3

40

50

1 活性が少なくなるように、（インビボまたはインビトロで）I L - 3 1 の活性を部分的に中和する。

【0043】

本明細書で使用される「抗体」という用語は、標的抗原に特異的に結合するか、または標的抗原と特異的に相互作用する少なくとも1つの相補性決定領域（CDR）を含む任意の抗原結合分子または分子複合体を意味すると理解される。「抗体」という用語は、ジスルフィド結合によって相互に連結された2つの重（H）鎖と2つの軽（L）鎖とを含む全長免疫グロブリン分子、ならびにその多量体（例えば、IgM）を含む。各重鎖は、重鎖可変領域（HCVR、VHまたはV_Hと省略され得る）および重鎖定常領域を含む。重鎖定常領域は、典型的には3つのドメイン—C_H1、C_H2およびC_H3を含む。各軽鎖は、軽鎖可変領域（LCVR、VL、VK、V_KまたはV_Lと省略され得る）および軽鎖定常領域を含む。軽鎖定常領域は、典型的には1つのドメイン（C_L1）を含む。V_HおよびV_L領域は、フレームワーク領域（FR）とも呼ばれるより保存された領域が散在する、相補性決定領域（CDR）と呼ばれる超可変領域にさらに細分することができる。各V_HおよびV_Lは、典型的には、アミノ末端からカルボキシ末端に向かって以下の順序で配置された3つのCDRおよび4つのFRを含む：FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の抗原結合分子のFRは、標的種（すなわち、本明細書に記載の抗原結合分子またはその抗原結合断片が投与される種）の生殖系列配列のFRと同一であり得る。いくつかの実施形態では、FRは、天然または人工的に改変され得る。FR配列の各々は、標的種の対象への投与の際に結合分子に対して引き起こされる免疫応答を最小限に抑えることを含めて、標的種の免疫グロブリン分子に由来するFR配列と同一であることが一般的に望ましいが、いくつかの実施形態では、抗原結合分子またはその抗原結合断片は、そのFR配列の1つまたは複数にわたって、標的種からの1またはそれを超えるFRにおける対応する位置で外来であり得る1またはそれを超えるアミノ酸残基を含んでもよい。好ましくは、抗原結合分子またはその抗原結合断片が、そのFR配列の1つまたは複数にわたって、標的種における対応する位置で外来である1またはそれを超えるアミノ酸残基を含む場合、その「外来」アミノ酸残基は、（i）天然のI L - 3 1を含むI L - 3 1に対する抗原結合分子またはその抗原結合断片の結合特異性に悪影響を及ぼさず、および／または（ii）標的種の対象に投与された場合、抗原結合分子またはその抗原結合断片に対して免疫応答を引き起こさせない。

【0044】

適切な抗体には、イヌIgGA、IgGB、IgGCおよびIgGDならびにネコIgG1a、IgG1bおよびIgG2（それらのサブクラスを含む）が含まれる。異なるクラスの免疫グロブリンのサブユニット構造および三次元構成は、当業者に周知である。

【0045】

本明細書で使用される場合、「相補性決定領域」（CDR）という用語は、標的抗原を認識して結合する免疫グロブリン可変ドメインの領域を指す。各可変ドメインは、CDR1、CDR2およびCDR3として同定される最大3つのCDR配列を含み得る。各CDRのアミノ酸配列は、Kabattナンバリング（例えば、軽鎖可変ドメインの約残基24～34（L1）、50～56（L2）および89～97（L3）ならびに重鎖可変ドメインの残基31～35（H1）、50～65（H2）および95～102（H3）；Kabatt et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991)）および／またはChothiaナンバリング（例えば、軽鎖可変ドメインの残基26～32（L1）、50～52（L2）および91～96（L3）ならびに重鎖可変ドメインの残基26～32（H1）、53～55（H2）および96～101（H3）についてChothia and Lesk J. Mol. Biol. 196:901-917 (1987)を参照）によって定義されることが多い。本明

細書に開示される C D R 配列は、特に明記しない限り、I M G T ナンバリングに基づく。

【 0 0 4 6 】

一実施形態では、本明細書に記載の抗原結合分子は、機能的部分（例えば、毒素）、検出可能な部分（例えば、蛍光分子、放射性同位体）、小分子薬物およびポリペプチドを含む別の分子または部分にコンジュゲートされる。

【 0 0 4 7 】

本明細書に記載の抗原結合分子の結合特異性に悪影響を及ぼすことなく、C D R 配列を含む本明細書に記載の抗原結合分子に改変を行うことができることを理解されたい。したがって、本開示は、本明細書中に開示される I L - 3 1 結合分子の機能的バリエーションにまで及ぶ。用語「機能的バリエーション」は、本明細書中で使用されるとき、1 またはそれを超える（例えば、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、14、15、16、17、18、19、20、21 など）アミノ酸の欠失、挿入および／または置換によって親配列または比較対照の配列（例えば、V H および／または V L）とは異なるアミノ酸配列を含む I L - 3 1 結合分子を意味すると理解されるべきであり、上記相違は、バリエーションが I L - 3 1 に結合する能力を無効にしないか、または完全には無効にしない。

【 0 0 4 8 】

バリエーションが上記機能を保持しているかどうかを判定する適切な方法は当業者によく知られており、その実例は本明細書の他の箇所に記載されている。機能的バリエーションは、比較対照の配列（例えば、配列番号 1 2 および 1 3）とは異なるアミノ酸配列を含んでもよい。いくつかの実施形態では、機能的バリエーションは、変形形態が比較される参照分子（例えば、V H および V L または配列番号 1 2 および 1 3 を含む抗原結合分子）と比較して、I L - 3 1 に対する抗原結合分子の結合親和性を増強するアミノ酸置換を含んでもよい。一実施形態では、機能的バリエーションは、本明細書の他の箇所に記載されているように、1 またはそれを超える保存的アミノ酸置換によって比較対照とは異なる。

【 0 0 4 9 】

「少なくとも 8 0 % の配列同一性」への言及は、例えば、最適アライメントまたは最適合分析後の、参照配列（例えば、配列番号 6 ~ 1 3 のいずれか 1 つ）と 8 0 %、8 5 %、8 6 %、8 7 %、8 8 %、8 9 %、9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、9 9 % または 1 0 0 % の配列同一性を含む。したがって、一実施形態では、抗原結合分子の機能的バリエーションは、例えば、最適アライメントまたは最適合分析後に、配列番号 1 2 または配列番号 1 3 と少なくとも 8 0 %、好ましくは少なくとも 8 5 %、好ましくは少なくとも 8 6 %、好ましくは少なくとも 8 7 %、好ましくは少なくとも 8 8 %、好ましくは少なくとも 8 9 %、好ましくは少なくとも 9 0 %、好ましくは少なくとも 9 1 %、好ましくは少なくとも 9 2 %、好ましくは少なくとも 9 3 %、好ましくは少なくとも 9 4 %、好ましくは少なくとも 9 5 %、好ましくは少なくとも 9 6 %、好ましくは少なくとも 9 7 %、好ましくは少なくとも 9 8 %、好ましくは少なくとも 9 9 % または好ましくは 1 0 0 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むか、それからなるか、またはそれから本質的になる。別の実施形態では、抗原結合分子の機能的バリエーションの C D R 配列は、例えば、最適アライメントまたは最適合分析後に、配列番号 6 ~ 1 1 のいずれか 1 つと少なくとも 8 0 %、好ましくは少なくとも 8 5 %、好ましくは少なくとも 8 6 %、好ましくは少なくとも 8 7 %、好ましくは少なくとも 8 8 %、好ましくは少なくとも 8 9 %、好ましくは少なくとも 9 0 %、好ましくは少なくとも 9 1 %、好ましくは少なくとも 9 2 %、好ましくは少なくとも 9 3 %、好ましくは少なくとも 9 4 %、好ましくは少なくとも 9 5 %、好ましくは少なくとも 9 6 %、好ましくは少なくとも 9 7 %、好ましくは少なくとも 9 8 %、好ましくは少なくとも 9 9 % または好ましくは 1 0 0 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むか、それからなるか、またはそれから本質的になる。

【 0 0 5 0 】

一実施形態では、(i) V H は、配列番号 6 と少なくとも 8 0 %、好ましくは少なくとも 8 5 %、好ましくは少なくとも 8 6 %、好ましくは少なくとも 8 7 %、好ましくは少なくとも 8 8 %、好ましくは少なくとも 8 9 %、好ましくは少なくとも 9 0 %、好ましくは

少なくとも 91%、好ましくは少なくとも 92%、好ましくは少なくとも 93%、好ましくは少なくとも 94%、好ましくは少なくとも 95%、好ましくは少なくとも 96%、好ましくは少なくとも 97%、好ましくは少なくとも 98%、好ましくは少なくとも 99% または好ましくは 100% の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む相補性決定領域 1 (VH CDR1) と、配列番号 7 と少なくとも 80%、好ましくは少なくとも 85%、好ましくは少なくとも 86%、好ましくは少なくとも 87%、好ましくは少なくとも 88%、好ましくは少なくとも 89%、好ましくは少なくとも 90%、好ましくは少なくとも 91%、好ましくは少なくとも 92%、好ましくは少なくとも 93%、好ましくは少なくとも 94%、好ましくは少なくとも 95%、好ましくは少なくとも 96%、好ましくは少なくとも 97%、好ましくは少なくとも 98%、好ましくは少なくとも 99% または好ましくは 100% の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む VH CDR2 と、配列番号 8 と少なくとも 80%、好ましくは少なくとも 85%、好ましくは少なくとも 86%、好ましくは少なくとも 87%、好ましくは少なくとも 88%、好ましくは少なくとも 89%、好ましくは少なくとも 90%、好ましくは少なくとも 91%、好ましくは少なくとも 92%、好ましくは少なくとも 93%、好ましくは少なくとも 94%、好ましくは少なくとも 95%、好ましくは少なくとも 96%、好ましくは少なくとも 97%、好ましくは少なくとも 98%、好ましくは少なくとも 99% または好ましくは 100% の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む VH CDR3 とを含み；(ii) VL は、配列番号 9 と少なくとも 80%、好ましくは少なくとも 85%、好ましくは少なくとも 86%、好ましくは少なくとも 87%、好ましくは少なくとも 88%、好ましくは少なくとも 89%、好ましくは少なくとも 90%、好ましくは少なくとも 91%、好ましくは少なくとも 92%、好ましくは少なくとも 93%、好ましくは少なくとも 94%、好ましくは少なくとも 95%、好ましくは少なくとも 96%、好ましくは少なくとも 97%、好ましくは少なくとも 98%、好ましくは少なくとも 99% または好ましくは 100% の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む相補性決定領域 1 (VL CDR1) と、配列番号 10 と少なくとも 80%、好ましくは少なくとも 85%、好ましくは少なくとも 86%、好ましくは少なくとも 87%、好ましくは少なくとも 88%、好ましくは少なくとも 89%、好ましくは少なくとも 90%、好ましくは少なくとも 91%、好ましくは少なくとも 92%、好ましくは少なくとも 93%、好ましくは少なくとも 94%、好ましくは少なくとも 95%、好ましくは少なくとも 96%、好ましくは少なくとも 97%、好ましくは少なくとも 98%、好ましくは少なくとも 99% または好ましくは 100% の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む VL CDR2 と、配列番号 11 と少なくとも 80%、好ましくは少なくとも 85%、好ましくは少なくとも 86%、好ましくは少なくとも 87%、好ましくは少なくとも 88%、好ましくは少なくとも 89%、好ましくは少なくとも 90%、好ましくは少なくとも 91%、好ましくは少なくとも 92%、好ましくは少なくとも 93%、好ましくは少なくとも 94%、好ましくは少なくとも 95%、好ましくは少なくとも 96%、好ましくは少なくとも 97%、好ましくは少なくとも 98%、好ましくは少なくとも 99% または好ましくは 100% の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む VL CDR3 とを含む。

10

20

30

40

50

【0051】

一実施形態では、VH は、配列番号 6 と少なくとも 80% の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む相補性決定領域 1 (VH CDR1)、配列番号 7 と少なくとも 80% の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む VH CDR2、および配列番号 8 と少なくとも 80% の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む VH CDR3 を含み；VL は、配列番号 9 と少なくとも 80% の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む相補性決定領域 1 (VL CDR1)、配列番号 10 と少なくとも 80% の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む VL CDR2、および配列番号 11 と少なくとも 80% の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む VL CDR3 を含む。

【0052】

一実施形態では、VH は、配列番号 6 のアミノ酸配列を含むか、それからなるか、またはそれから本質的になる相補性決定領域 1 (VH CDR1)、配列番号 7 のアミノ酸を

含むか、それからなるか、またはそれから本質的になる V H C D R 2、および配列番号 8 のアミノ酸配列を含むか、それからなるか、またはそれから本質的になる V H C D R 3 を含む； V L は、配列番号 9 のアミノ酸配列を含むか、それからなるか、またはそれから本質的になる相補性決定領域 1 (V L C D R 1)、配列番号 10 のアミノ酸配列を含むか、それからなるか、またはそれから本質的になる V L C D R 2、および配列番号 11 のアミノ酸配列を含むか、それからなるか、またはそれから本質的になる V L C D R 3 を含むか、それからなるか、またはそれから本質的になる。

【 0 0 5 3 】

一実施形態では、本明細書に記載の抗原結合分子は、配列番号 12 のアミノ酸配列、またはそれと少なくとも 80 %、好ましくは少なくとも 85 %、好ましくは少なくとも 90 %、好ましくは少なくとも 95 %、もしくはより好ましくは少なくとも 98 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む重鎖可変領域 (V H) を含む。一実施形態では、本明細書に記載の抗原結合分子は、配列番号 13 のアミノ酸配列、またはそれと少なくとも 80 %、好ましくは少なくとも 85 %、好ましくは少なくとも 90 %、好ましくは少なくとも 95 %、もしくはより好ましくは少なくとも 98 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域 (V H) を含む。

【 0 0 5 4 】

一実施形態では、本明細書に記載の抗原結合分子は、(a) 配列番号 12 のアミノ酸配列、またはそれと少なくとも 80 %、好ましくは少なくとも 85 %、好ましくは少なくとも 90 %、好ましくは少なくとも 95 %、もしくはより好ましくは少なくとも 98 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む重鎖可変領域 (V H) と、(b) 配列番号 13 のアミノ酸配列、またはそれと少なくとも 80 %、好ましくは少なくとも 85 %、好ましくは少なくとも 90 %、好ましくは少なくとも 95 %、もしくはより好ましくは少なくとも 98 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域 (V L) とを含む。

【 0 0 5 5 】

一実施形態では、本明細書に記載の抗原結合分子は、(a) 配列番号 12 のアミノ酸配列、またはそれと少なくとも 80 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む重鎖可変領域 (V H) と、(b) 配列番号 13 のアミノ酸配列、またはそれと少なくとも 80 % の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域 (V L) とを含む。

【 0 0 5 6 】

一実施形態では、重鎖可変領域 (V H) は配列番号 12 のアミノ酸配列を含み、軽鎖可変領域 (V L) は配列番号 13 のアミノ酸配列を含む。

【 0 0 5 7 】

一実施形態では、重鎖可変領域 (V H) は、配列番号 12 のアミノ酸配列からなるか、または本質的になり、軽鎖可変領域 (V L) は、配列番号 13 のアミノ酸配列からなるか、または本質的になる。

【 0 0 5 8 】

本明細書で使用される「同一性」、「類似性」、「配列同一性」、「配列類似性」、「相同性」、「配列相同性」などの用語は、アライメントされた配列中の任意の特定のアミノ酸残基位置で、アミノ酸残基が、アライメントされた配列間で同一であることを意味する。本明細書で使用される「類似性」または「配列類似性」という用語は、アライメントされた配列の任意の特定の位置で、アミノ酸残基が、配列間で類似のタイプであることを示す。例えば、イソロイシンまたはバリン残基の代わりにロイシンを用いてもよい。これは保存的置換と称され得る。一実施形態では、アミノ酸配列は、改変が非改変ポリペプチドと比較した場合に改変ポリペプチドの結合特異性または機能活性に影響を及ぼさないように、そこに含まれるアミノ酸残基のいずれかの保存的置換によって改変され得る。

【 0 0 5 9 】

いくつかの実施形態では、ペプチド配列に関する配列同一性は、配列をアライメントし、最大パーセンテージ相同性を達成するために必要な場合ギャップを導入した後、配列同一性の一部として保存的置換を考慮せずに、対応するペプチド配列の残基と同一である候

補配列中のアミノ酸残基のパーセンテージに関する。N末端またはC末端伸長も挿入も、配列同一性または相同性を低下させると解釈されるべきではない。2つまたはそれを超えるアミノ酸配列のアラインメントを実施し、それらの配列同一性または相同性を決定するための方法およびコンピュータプログラムは、当業者に周知である。例えば、2つのアミノ酸配列の同一性または類似性のパーセンテージは、アルゴリズム、例えばBLAST、FASTAまたはSmith-Watermanアルゴリズムを使用して容易に計算することができる。

【0060】

アミノ酸配列「類似性」を決定するための技術は当業者に周知である。一般に、「類似性」は、2つまたはそれを超えるペプチド配列の、またはアミノ酸が同一であるか、または電荷もしくは疎水性などの類似の化学的および／または物理的特性を有する適切な場所での、アミノ酸とアミノ酸との正確な比較を意味する。その場合、そのように呼ばれる「パーセント類似性」を、比較されるペプチド配列間で決定することができる。一般に、「同一性」は、2つのペプチド配列の正確なアミノ酸とアミノ酸の対応を指す。

【0061】

2つまたはそれを超えるペプチド配列を、それらの「パーセント同一性」を決定することによって比較することもできる。2つの配列の同一性パーセントは、2つのアラインメントされた配列間の完全一致の数を短い方の配列の長さで割って100を掛けたものとして記載され得る。核酸配列のおおよそのアラインメントは、Smith and Waterman, *Advances in Applied Mathematics* 2: 482-489 (1981)の局所相同性アルゴリズムによって提供される。このアルゴリズムは、Dayhoff, *Atlas of Protein Sequences and Structure*, M. O. Dayhoff ed., 5 suppl. 3: 353-358, National Biomedical Research Foundation, Washington, D. C., USAによって開発され、Gribskov, *Nucl. Acids Res.* 14 (6): 6745-6763 (1986)によって標準化された、スコアリングマトリックスを使用してペプチド配列と共に使用するように拡張することができる。配列間の同一性または類似性パーセントを計算するための適切なプログラムは、当技術分野で一般的に公知である。

【0062】

比較ウィンドウをアライメントするための配列の最適アライメントは、アルゴリズムのコンピュータ化された実装 (Wisconsin Genetics Software Package Release 7.0, Genetics Computer Group, 575 Science Drive Madison, WI, USAのGAP、BESTFIT、FASTA、およびTFASTA) によって、または検査および選択された様々な方法のいずれかによって生成された最良アライメント (すなわち、比較ウィンドウにわたって最も高いパーセンテージの相同性をもたらす) によって行われ得る。例えば、Altschul et al., 1997, *Nucl. Acids Res.* 25: 3389によって開示されているBLASTファミリーのプログラムも参照することができる。配列分析の詳細な考察は、Ausubel et al., 「*Current Protocols in Molecular Biology*」、John Wiley & Sons Inc, 1994-1998, Chapter 15のUnit 19.3に見出すことができる。

【0063】

いくつかの実施形態では、機能的バリエーションは、CDR配列のいずれか1つまたは複数に、少なくとも1つの (例えば、1、2、3、4または5つの) アミノ酸置換、好ましくは保存的アミノ酸置換を含む。一実施形態では、抗原結合分子は、CDR配列のいずれか1つまたは複数に、1、2または3つのアミノ酸置換を含む。他の実施形態では、機能的バリエーションは、VH配列および／またはVL配列の非CDR領域内 (例えば、フレームワーク領域内) に1またはそれを超えるアミノ酸の置換、挿入および／または欠失を含む。

【 0 0 6 4 】

ＩＬ－３１に特異的に結合することができる機能的バリエーションをスクリーニングし、特定することは、十分に当業者の能力の範囲内である。適切なスクリーニング方法の例示的な例は、本明細書の他の箇所に記載されている。

【 0 0 6 5 】

好ましい実施形態では、アミノ酸置換は保存的アミノ酸置換である。「保存的アミノ酸置換」は、アミノ酸残基が類似の側鎖を有するアミノ酸残基で置換される置換を意味すると理解されるべきである。類似の側鎖を有するアミノ酸残基のファミリーは当技術分野で定義されており、以下の表「アミノ酸分類」に示されるように一般的に下位分類することができる。

10

【表 4】

アミノ酸下位分類

サブクラス	アミノ酸
酸性	アスパラギン酸、グルタミン酸
塩基性	非環状：アルギニン、リジン；環状：ヒスチジン
荷電	アスパラギン酸、グルタミン酸、アルギニン、リジン、ヒスチジン
小	グリシン、セリン、アラニン、トレオニン、プロリン
極性／中性	アスパラギン、ヒスチジン、グルタミン、システイン、セリン、トレオニン
極性／大	アスパラギン、グルタミン
疎水性	チロシン、バリン、イソロイシン、ロイシン、メチオニン、フェニルアラニン、トリプトファン
芳香族	トリプトファン、チロシン、フェニルアラニン
鎖配向に影響を及ぼす残基	グリシンおよびプロリン

20

30

【 0 0 6 6 】

保存的アミノ酸置換には、側鎖に基づく群分けも含まれる。例えば、脂肪族側鎖を有するアミノ酸の群は、グリシン、アラニン、バリン、ロイシンおよびイソロイシンであり；脂肪族－ヒドロキシル側鎖を有するアミノ酸の群は、セリンおよびトレオニンであり；アミド含有側鎖を有するアミノ酸の群はアスパラギンおよびグルタミンであり；芳香族側鎖を有するアミノ酸の群は、フェニルアラニン、チロシン、およびトリプトファンであり；塩基性側鎖を有するアミノ酸の群は、リジン、アルギニン、およびヒスチジンであり；硫黄含有側鎖を有するアミノ酸の群はシステインおよびメチオニンである。例えば、ロイシンをイソロイシンもしくはバリンで置き換えること、アスパラギン酸をグルタミン酸で置き換えること、トレオニンをセリンで置き換えること、またはアミノ酸を構造的に関連するアミノ酸で同様に置き換えることは、得られるバリエーションポリペプチドの特性に大きな影響を及ぼさないと予想することが合理的である。アミノ酸変化が機能性ポリペプチドをもたらすかどうかは、その活性をアッセイすることによって容易に決定することができる。

40

【 0 0 6 7 】

保存的置換を以下の表にも示す（例示的および好ましいアミノ酸置換）。本発明の範囲内に入るアミノ酸置換は、一般に、（a）置換の領域におけるペプチド骨格の構造、（b）標的部位における分子の電荷もしくは疎水性、または（c）側鎖の大きさの維持に対す

50

るそれらの効果が有意に異ならない置換を選択することによって達成される。置換が導入された後、本明細書の他の箇所に記載される方法を含む、当業者に公知の方法を使用して、ＩＬ－３１に特異的に結合するそれらの能力についてバリエーションをスクリーニングすることができる。

【表５】

例示的および好ましいアミノ酸置換

元の残基	例示的な置換	好ましい置換
Ala	Val, Leu, Ile	Val
Arg	Lys, Gln, Asn	Lys
Asn	Gln, His, Lys, Arg	Gln
Asp	Glu	Glu
Cys	Ser	Ser
Gln	Asn, His, Lys,	Asn
Glu	Asp, Lys	Asp
Gly	Pro	Pro
His	Asn, Gln, Lys, Arg	Arg
Ile	Leu, Val, Met, Ala, Phe, Norleu	Leu
Leu	Norleu, Ile, Val, Met, Ala, Phe	Ile
Lys	Arg, Gln, Asn	Arg
Met	Leu, Ile, Phe	Leu
Phe	Leu, Val, Ile, Ala	Leu
Pro	Gly	Gly
Ser	Thr	Thr
Thr	Ser	Ser
Trp	Tyr	Tyr
Tyr	Trp, Phe, Thr, Ser	Phe
Val	Ile, Leu, Met, Phe, Ala, Norleu	Leu

10

20

30

【００６８】

一実施形態では、本明細書に記載の抗原結合分子は、イヌＩＬ－３１に特異的に結合する。一実施形態では、本明細書に記載の抗原結合分子は、ネコＩＬ－３１に特異的に結合する。

40

【００６９】

本開示は、天然のＩＬ－３１（すなわち、天然に存在するＩＬ－３１）に特異的に結合する抗原結合分子、ならびにそのバリエーションに及ぶ。そのようなバリエーションは、１またはそれを超えるアミノ酸の置換、欠失および／または挿入によって天然に存在する（野生型）分子とは異なるＩＬ－３１分子を含み得る。このタイプのバリエーションＩＬ－３１分子は、天然に存在する形態または合成（例えば、組換え）形態であり得る。しかしながら、好ましい実施形態では、本明細書に記載の抗原結合分子は、天然の形態のＩＬ－３１に特異的に結合することが理解されるべきである。

50

【0070】

「抗原結合断片」、「抗原結合部分」、「抗原結合ドメイン」、「抗原結合部位」などの用語は、本明細書では、標的抗原（すなわち、天然のIL-31を含むIL-31）に結合する能力を保持する抗原結合分子の一部を指すために互換的に使用される。これらの用語には、IL-31に特異的に結合して複合体を形成する天然に存在する、酵素的に得ることができる、合成または遺伝子操作された（組換え）ポリペプチドおよび糖タンパク質が含まれる。

【0071】

抗原結合断片は、例えば、当業者に公知の任意の適切な方法を使用して天然由来の免疫グロブリン分子から得ることができ、その事例には、抗体可変ドメインおよび必要に応じて定常ドメインをコードする核酸配列の操作および発現を含むタンパク質分解消化または組換え遺伝子操作技術が含まれる。適切な核酸配列は公知であり、および／または例えば商業的供給源、DNAライブラリ（例えばファージ抗体ライブラリを含む）から容易に入手可能であるか、または合成することができる。核酸配列は、例えば、1またはそれを超える可変ドメインおよび／または定常ドメインを適切な構成に配置するために、またはコドンの導入、システイン残基の作成、アミノ酸の改変、付加もしくは欠失などのために、化学的にまたは分子生物学技術を使用して配列決定および操作され得る。

【0072】

適切な抗原結合断片の非限定的な例としては、(i) Fab断片；(ii) F(ab')₂断片；(iii) Fd断片；(iv) Fv断片；(v) 一本鎖Fv(scFv)分子；(vi) dAb断片；(vii) 抗体の超可変領域を模倣するアミノ酸残基からなる最小認識単位（例えば、単離されたCDR、例えばCDR3ペプチド）または拘束性FR3-CDR3-FR4ペプチドが挙げられる。他の操作された分子、例えばドメイン特異的抗体、単ドメイン抗体、ドメイン欠失抗体、キメラ抗体、CDRグラフト抗体、1アーム抗体、ダイアボディ、トリアボディ、テトラボディ、ミニボディ、ナノボディ（例えば、一価ナノボディ、二価ナノボディなど）、および小型モジュラー免疫医薬品（SMIP）も、本明細書で使用される「抗原結合断片」という用語に包含される。

【0073】

一実施形態では、抗原結合断片は、少なくとも1つの免疫グロブリン可変ドメインを含む。可変ドメインは、任意の適切な長さまたは組成のアミノ酸配列を含んでもよく、一般に、1またはそれを超えるフレームワーク配列に隣接するかまたはそれとインフレームである少なくとも1つのCDRを含む。抗原結合断片がV_HドメインおよびV_Lドメインを含む場合、V_HドメインおよびV_Lドメインは、任意の適切な配置で互いに対して位置し得る。例えば、可変領域は二量体であってもよく、V_H-V_H、V_H-V_LまたはV_L-V_L二量体を含有してもよい。あるいは、抗体の抗原結合断片は、単量体V_HまたはV_Lドメインを含有してもよい。

【0074】

いくつかの実施形態では、抗原結合断片は、少なくとも1つの定常ドメインに共有結合で連結した少なくとも1つの可変ドメインを含んでもよい。抗原結合断片内に見出され得る可変ドメインおよび定常ドメインの非限定的な構成には、以下が含まれる：(i) V_H-C_H1；(ii) V_H-C_H2；(iii) V_H-C_H3；(iv) V_H-C_H1-C_H2；(v) V_H-C_H1-C_H2-C_H3、(vi) V_H-C_H2-C_H3；(vii) V_H-C_L；(viii) V_L-C_H1；(ix) V_L-C_H2、(x) V_L-C_H3；(xi) V_L-C_H1-C_H2；(xii) V_L-C_H1-C_H2-C_H3；(xiii) V_L-C_H2-C_H3；および(xiv) V_L-C_L。上に列挙した例示的な構成のいずれかを含む、可変ドメインおよび定常ドメインの任意の構成において、可変ドメインおよび定常ドメインは、互いに直接連結されていてもよく、または完全もしくは部分的なヒンジもしくはリンカー領域によって連結されていてもよい。ヒンジ領域は、単一のポリペプチド分子内の隣接する可変ドメインおよび／または定常ドメイン間にフレキシブルまたは半フレキシブルな連結をもたらす少なくとも2つの（例えば、5、10、15、20、40、

10

20

30

40

50

60 またはそれを超える) アミノ酸からなり得る。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の抗原結合断片は、互いにおよび／または1またはそれを超える単量体V_HまたはV_Lドメインと(例えば、ジスルフィド結合(複数可)によって)非共有結合で会合した、上に列挙した可変ドメインおよび定常ドメイン構成のいずれかのホモ二量体またはヘテロ二量体(または他の多量体)を含んでもよい。多重特異性抗原結合分子は、典型的には、少なくとも2つの異なる可変ドメインを含み、各可変ドメインは、別個の抗原または同じ抗原上の異なるエピトープに特異的に結合することができる。二重特異性抗原結合分子フォーマットを含む任意の多重特異性抗原結合分子フォーマットは、当技術分野で利用可能な日常的な技術を使用して、本開示の抗体の抗原結合断片の状況での使用に適合させることができる。

10

【0075】

「可変領域」または「可変ドメイン」という用語は、標的抗原への結合に関与する免疫グロブリン重鎖または軽鎖のドメインを指す。天然の免疫グロブリン分子の重鎖および軽鎖の可変ドメイン(それぞれV_HおよびV_L)は、一般に、同様の構造を有し、各ドメインは、4つの保存されたフレームワーク領域および3つの超可変領域(HVR)を含む。例えばKindt et al., Kuby Immunology, 6th ed., W. H. Freeman and Co., page 91 (2007)を参照されたい。単一のV_HまたはV_Lドメインは、抗原結合特異性を付与するのに十分であり得る。

【0076】

本明細書に記載の抗原結合分子は、例えば、その種への投与後に抗原結合分子に対して生成される免疫応答を最小化または他の方法で回避するために、標的種との適合性のために適切に改変され得る。一実施形態では、抗原結合分子は、イヌ化(caninized)、ネコ化(felinized)またはウマ化(equinized)される。

20

【0077】

「イヌ化」とは、抗原結合分子がイヌと適合性のアミノ酸配列を含むことを意味し、その結果、アミノ酸配列がイヌ対象の免疫系によって外来と見なされる可能性は低い。一実施形態では、イヌ化抗原結合分子は、1またはそれを超えるイヌ免疫グロブリン分子に由来する1またはそれを超える免疫グロブリンフレームワーク領域を含む。いくつかの実施形態では、イヌ化抗原結合分子のすべてのフレームワーク領域は、1またはそれを超えるイヌ免疫グロブリン分子に由来する。イヌ化抗体は、必要に応じて、イヌ免疫グロブリン分子に由来する免疫グロブリン重鎖定常領域を含んでもよい。したがって、一実施形態では、抗原結合分子は、イヌ化抗原結合分子である。

30

【0078】

「ネコ化」とは、抗原結合分子がネコと適合性のアミノ酸配列を含むことを意味し、その結果、アミノ酸配列がネコ対象の免疫系によって外来と見なされる可能性は低い。一実施形態では、ネコ化抗原結合分子は、1またはそれを超えるネコ免疫グロブリン分子に由来する1またはそれを超える免疫グロブリンフレームワーク領域を含む。いくつかの実施形態では、ネコ化抗原結合分子のすべてのフレームワーク領域は、1またはそれを超えるネコ免疫グロブリン分子に由来する。ネコ化抗体は、必要に応じて、ネコ免疫グロブリン分子に由来する免疫グロブリン重鎖定常領域を含んでもよい。一実施形態では、抗原結合分子は、ネコ化抗原結合分子である。

40

【0079】

「ウマ化」とは、抗原結合分子がウマと適合性のアミノ酸配列を含むことを意味し、その結果、アミノ酸配列がウマ対象の免疫系によって外来と見なされる可能性は低い。一実施形態では、ウマ化抗原結合分子は、1またはそれを超えるウマ免疫グロブリン分子に由来する1またはそれを超える免疫グロブリンフレームワーク領域を含む。いくつかの実施形態では、ウマ化抗原結合分子のすべてのフレームワーク領域は、1またはそれを超えるウマ免疫グロブリン分子に由来する。ウマ化抗体は、必要に応じて、ウマ免疫グロブリン分子に由来する免疫グロブリン重鎖定常領域を含んでもよい。

【0080】

50

本開示は、イヌ、ネコおよびウマ以外の種と適合する抗原結合分子にも及ぶことが理解されるべきである。これに関連して、抗原結合分子は、分子が投与される標的種を指す「特殊化 (speciesized)」と呼ばれ得る。

【0081】

標的種に適合する組換え抗体または抗原結合分子を設計および産生する適切な方法は当業者によく知られており、その実例は、Cattaneo (2010; Curr. Op. Mol. Ther. 12 (1): 94-106)、WO2006/131951、WO2012/153122、WO2013/034900、WO2012/153121およびWO2012/153123に記載されており、その内容は参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。

10

【0082】

一実施形態では、抗原結合分子は、イヌ化される。一実施形態では、イヌ化抗原結合分子は、(i) 以下を含む重鎖可変ドメイン (VH) :

(a) 配列番号18、22、26、30および34からなる群より選択される重鎖可変ドメインフレームワーク領域1 (VHFR1) アミノ酸配列に対して少なくとも80%の配列同一性を有するVHFR1アミノ酸配列、

(b) 配列番号19、23、27、31および35からなる群から選択されるVHFR2アミノ酸配列に対して少なくとも80%の配列同一性を有するVHFR2アミノ酸配列、

(c) 配列番号20、24、27、32および36からなる群から選択されるVHFR3アミノ酸配列に対して少なくとも80%の配列同一性を有するVHFR3アミノ酸配列、ならびに

20

(d) 配列番号21、25、28、33および37からなる群から選択されるVHFR4アミノ酸配列に対して少なくとも80%の配列同一性を有するVHFR4アミノ酸配列；

および／または(ii) 以下を含む軽鎖可変ドメイン (VL) :

(e) 配列番号38、42、46および50からなる群より選択される重鎖可変ドメインフレームワーク領域1 (VLFR1) アミノ酸配列に対して少なくとも80%の配列同一性を有するVLFR1アミノ酸配列、

(f) 配列番号39、43、47および51からなる群から選択されるVLFR2アミノ酸配列に対して少なくとも80%の配列同一性を有するVLFR2アミノ酸配列、

30

(g) 配列番号40、44、48および52からなる群から選択されるVLFR3アミノ酸配列に対して少なくとも80%の配列同一性を有するVLFR3アミノ酸配列、

(h) 配列番号41、45、49および53からなる群から選択されるVHFR4アミノ酸配列に対して少なくとも80%の配列同一性を有するVLFR4アミノ酸配列を含む。

【0083】

一実施形態では、イヌ化抗原結合分子は、

(i) 以下を含む重鎖可変ドメイン (VH) :

(a) 配列番号81または配列番号85の重鎖可変ドメインフレームワーク領域1 (VHFR1) アミノ酸配列に対して少なくとも80%の配列同一性を有するVHFR1アミノ酸配列、

40

(b) 配列番号82または配列番号86のVHFR2アミノ酸配列に対して少なくとも80%の配列同一性を有するVHFR2アミノ酸配列、

(c) 配列番号83または配列番号87のVHFR3アミノ酸配列に対して少なくとも80%の配列同一性を有するVHFR3アミノ酸配列、ならびに

(d) 配列番号84または配列番号88のVHFR4アミノ酸配列に対して少なくとも80%の配列同一性を有するVHFR4アミノ酸配列；および／または

(ii) 以下を含む軽鎖可変ドメイン (VL) :

(e) 配列番号89の重鎖可変ドメインフレームワーク領域1 (VLFR1) アミノ

50

酸配列に対して少なくとも 80% の配列同一性を有する V L F R 1 アミノ酸配列、

(f) 配列番号 90 の V L F R 2 アミノ酸配列に対して少なくとも 80% の配列同一性を有する V L F R 2 アミノ酸配列、

(g) 配列番号 91 の V L F R 3 アミノ酸配列に対して少なくとも 80% の配列同一性を有する V L F R 3 アミノ酸配列、ならびに

(h) 配列番号 92 の V H F R 4 アミノ酸配列に対して少なくとも 80% の配列同一性を有する V L F R 4 アミノ酸配列

を含む。

【0084】

一実施形態では、イヌ化抗原結合分子は、配列番号 99 または配列番号 100 の重鎖可変ドメイン (V H) アミノ酸配列に対して少なくとも 80% の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む V H を含む。

【0085】

一実施形態では、イヌ化抗原結合分子は、配列番号 101 の軽鎖可変ドメイン (V L) アミノ酸配列に対して少なくとも 80% の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む V L を含む。

【0086】

一実施形態では、抗原結合分子は、ネコ化される。一実施形態では、ネコ化抗原結合分子は、(i) 以下を含む重鎖可変ドメイン (V H) :

(a) 配列番号 54 の重鎖可変ドメインフレームワーク領域 1 (V H F R 1) アミノ酸配列に対して少なくとも 80% の配列同一性を有する V H F R 1 アミノ酸配列、

(b) 配列番号 55 の V H F R 2 アミノ酸配列に対して少なくとも 80% の配列同一性を有する V H F R 2 アミノ酸配列、

(c) 配列番号 56 の V H F R 3 アミノ酸配列に対して少なくとも 80% の配列同一性を有する V H F R 3 アミノ酸配列、ならびに

(d) 配列番号 57 の V H F R 4 アミノ酸配列に対して少なくとも 80% の配列同一性を有する V H F R 4 アミノ酸配列 ;

および / または (i i) 以下を含む軽鎖可変ドメイン (V L) :

(e) 配列番号 58 の軽鎖可変ドメインフレームワーク領域 1 (V L F R 1) アミノ酸配列に対して少なくとも 80% の配列同一性を有する V L F R 1 アミノ酸配列、

(f) 配列番号 59 の V L F R 2 アミノ酸配列に対して少なくとも 80% の配列同一性を有する V L F R 2 アミノ酸配列、

(g) 配列番号 60 の V L F R 3 アミノ酸配列に対して少なくとも 80% の配列同一性を有する V L F R 3 アミノ酸配列、ならびに

(h) 配列番号 61 の V H F R 4 アミノ酸配列に対して少なくとも 80% の配列同一性を有する V L F R 4 アミノ酸配列

を含む。

【0087】

イヌ、ネコおよびウマを含む標的種との適合性のために本明細書に開示される抗原結合分子を改変するときを使用することができる他の適切なフレームワーク領域配列は、当業者によく知られており、その実例は、C a t t a n e o (2010 ; 上記)、W O 2 0 0 6 / 1 3 1 9 5 1、W O 2 0 1 2 / 1 5 3 1 2 2、W O 2 0 1 3 / 0 3 4 9 0 0、W O 2 0 1 2 / 1 5 3 1 2 1 および W O 2 0 1 2 / 1 5 3 1 2 3 に記載されている。

【0088】

「特異的に結合する」または「特異的結合」という語句は、生理学的条件下で、バックグラウンドの少なくとも 2 倍、より典型的にはバックグラウンド分子会合の 10 倍 ~ 100 倍超である 2 つの分子間の結合反応を指す。タンパク質である 1 またはそれを超える検出可能な結合剤を使用する場合、特異的結合は、タンパク質および他の生物製剤の不均一な集団におけるタンパク質の存在を決定する。したがって、指定された免疫アッセイ条件下で、指定された抗原結合分子は特定の抗原決定基に結合し、それによってその存在を同

10

20

30

40

50

定する。そのような条件下での抗原決定基への特異的結合は、その決定基に対するその特異性について選択される抗原結合分子を必要とする。この選択は、他の分子と交差反応する抗原結合分子を差し引くことによって達成され得る。様々な免疫アッセイフォーマットを使用して、抗原結合分子（例えば、免疫グロブリン）を〔それらが特定の抗原と特異的に免疫反応性であるように選択してもよい。例えば、固相 E L I S A 免疫アッセイは、タンパク質と特異的に免疫反応性の抗体を選択するために日常的に使用されている（特異的免疫反応性を決定するために使用することができる免疫アッセイフォーマットおよび条件の説明については、例えば、Harlow & Lane, Antibodies, A Laboratory Manual (1988) を参照のこと。）。結合親和性および特異性を決定する方法も当技術分野で周知である（例えば、Harlow and Lane、上記）；Friedlander「Physical Biochemistry: Applications to biochemistry and molecular biology」(W. H. Freeman and Co. 1976) を参照）。

10

【0089】

「親和性」または「結合親和性」は、分子の単一の結合部位（例えば、抗原結合分子）とその結合パートナー（例えば、抗原）との間の非共有結合相互作用の総和の強さを指す。特に明記しない限り、本明細書で使用される場合、「結合親和性」は、結合対のメンバー、例えば抗原結合分子間の 1 : 1 相互作用を反映する固有の結合親和性を指す。分子 X のそのパートナー Y に対する親和性は、一般に、解離速度定数と会合速度定数との比（それぞれ k_{off} および k_{on} ）である解離定数 (K_d) によって表すことができる。したがって、同等の親和性は、速度定数の比が同じままである限り、異なる速度定数を含んでもよい。親和性は、本明細書に記載されるものを含む、当技術分野で公知の一般的な方法によって測定することができる。親和性を測定するための特定の方法は、表面プラズモン共鳴 (SPR) である。

20

【0090】

「ポリペプチド」、「ペプチド」または「タンパク質」という用語は、本明細書では、隣接する残基のアルファアミノ基とカルボキシ基との間のペプチド結合によって互いに連結された直鎖状の一連のアミノ酸残基を指すために互換的に使用される。アミノ酸残基は、通常、天然の「L」異性体の形態である。しかしながら、「D」異性体形態の残基が、所望の機能特性がポリペプチドによって保持される限り、任意の L-アミノ酸残基の代わりに使用し得る。

30

【0091】

本明細書で使用される場合、「改変抗体」という用語は、天然に存在しないように改変された抗体の合形成態、例えば、少なくとも 2 つの重鎖部分を含むが 2 つの完全な重鎖を含まない抗体（ドメイン欠失抗体またはミニボディなど）；2 つまたはそれを超える異なる抗原または単一抗原上の異なるエпитープに結合するように改変された多重特異性形態の抗体（例えば、二重特異性、三重特異性など）；s c F v 分子に結合した重鎖分子などを含む。s c F v 分子は当技術分野で公知であり、例えば、米国特許第 5,892,019 号に記載されている。さらに、「改変抗体」という用語は、多価形態の抗体（例えば、同じ抗原の 3 つまたはそれを超えるコピーに結合する三価、四価などの抗体）を含む。

40

【0092】

一実施形態では、抗原結合分子は、本明細書の他の箇所に記載されるように、抗体またはその抗原結合断片である。一実施形態では、抗原結合断片は、F a b 断片、s c F a b、F a b'、一本鎖可変断片 (s c F v) および 1 アーム抗体からなる群から選択される。

【0093】

一実施形態では、抗原結合分子は、免疫グロブリン分子の重鎖および／または軽鎖定常領域を含む。一実施形態では、抗原結合分子は、イヌ、ネコまたはウマ免疫グロブリン分子の重鎖および／または軽鎖定常領域を含む。

【0094】

一実施形態では、抗原結合分子は、イヌ免疫グロブリン分子の重鎖定常領域を含む。一

50

実施形態では、抗原結合分子は、イヌ免疫グロブリン分子の軽鎖定常領域を含む。さらなる一実施形態では、抗原結合分子は、イヌ免疫グロブリン分子の重鎖および軽鎖定常領域を含む。

【0095】

一実施形態では、抗原結合分子は、I g G A、I g G B、I g G CおよびI g G Dからなる群から選択されるイヌ免疫グロブリン分子の重鎖定常領域を含む。一実施形態では、抗原結合分子は、I g G A、I g G B、I g G CおよびI g G Dからなる群から選択されるイヌ免疫グロブリン分子の軽鎖定常領域を含む。一実施形態では、抗原結合分子は、I g G A、I g G B、I g G CおよびI g G Dからなる群から選択されるイヌ免疫グロブリン分子の重鎖定常領域および軽鎖定常領域を含む。

10

【0096】

一実施形態では、抗原結合分子は、イヌI g G A分子の重鎖定常領域を含む。一実施形態では、抗原結合分子は、イヌI g G A分子の軽鎖定常領域を含む。一実施形態では、抗原結合分子は、イヌI g G A分子の重鎖定常領域および軽鎖定常領域を含む。

【0097】

一実施形態では、抗原結合分子は、イヌI g G B分子の重鎖定常領域を含む。一実施形態では、抗原結合分子は、イヌI g G B分子の軽鎖定常領域を含む。一実施形態では、抗原結合分子は、イヌI g G B分子の重鎖定常領域および軽鎖定常領域を含む。

【0098】

一実施形態では、抗原結合分子は、イヌI g G C分子の重鎖定常領域を含む。一実施形態では、抗原結合分子は、イヌI g G C分子の軽鎖定常領域を含む。一実施形態では、抗原結合分子は、イヌI g G C分子の重鎖定常領域および軽鎖定常領域を含む。

20

【0099】

一実施形態では、抗原結合分子は、イヌI g G D分子の重鎖定常領域を含む。一実施形態では、抗原結合分子は、イヌI g G D分子の軽鎖定常領域を含む。一実施形態では、抗原結合分子は、イヌI g G D分子の重鎖定常領域および軽鎖定常領域を含む。

一実施形態では、イヌ免疫グロブリン分子は、配列番号2のアミノ酸配列、またはそれと少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むか、それからなるか、またはそれから本質的になるイヌI g G Aである。一実施形態では、イヌI g G Aは、配列番号2のアミノ酸配列を含むか、それからなるか、またはそれから本質的になる。

30

一実施形態では、抗原結合分子は、配列番号16のアミノ酸配列、またはそれと少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むか、それからなるか、またはそれから本質的になる免疫グロブリン重鎖を含む。

【0100】

一実施形態では、抗原結合分子は、配列番号17のアミノ酸配列、またはそれと少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むか、それからなるか、またはそれから本質的になる免疫グロブリン軽鎖を含む。

【0101】

一実施形態では、抗原結合分子は、配列番号16のアミノ酸配列を含むか、それからなるか、またはそれから本質的になる免疫グロブリン重鎖を含む。

40

【0102】

一実施形態では、抗原結合分子は、配列番号17のアミノ酸配列を含むか、それからなるか、またはそれから本質的になる免疫グロブリン軽鎖を含む。

【0103】

一実施形態では、V Hは配列番号14の核酸配列によってコードされる。一実施形態では、V Hは配列番号15の核酸配列によってコードされる。

【0104】

一実施形態では、キメラ抗体またはそのI L-31結合断片は、I g G 1 a、I g G 1 bおよびI g G 2からなる群から選択されるネコ免疫グロブリン分子の重鎖定常領域を含む。一実施形態では、キメラ抗体またはそのI L-31結合断片は、I g G 1 a、I g G

50

1 b および I g G 2 からなる群から選択されるネコ免疫グロブリン分子の軽鎖定常領域を含む。一実施形態では、キメラ抗体またはその I L - 3 1 結合断片は、I g G 1 a、I g G 1 b および I g G 2 からなる群から選択されるネコ免疫グロブリン分子の重鎖定常領域および軽鎖定常領域を含む。

【0105】

一実施形態では、キメラ抗体またはその I L - 3 1 結合断片は、ネコ I g G 1 a 分子の重鎖定常領域を含む。一実施形態では、キメラ抗体またはその I L - 3 1 結合断片は、ネコ I g G 1 a 分子の軽鎖定常領域を含む。一実施形態では、キメラ抗体またはその I L - 3 1 結合断片は、ネコ I g G 1 a 分子の重鎖定常領域および軽鎖定常領域を含む。

【0106】

一実施形態では、キメラ抗体またはその I L - 3 1 結合断片は、ネコ I g G 1 b 分子の重鎖定常領域を含む。一実施形態では、キメラ抗体またはその I L - 3 1 結合断片は、ネコ I g G 1 b 分子の軽鎖定常領域を含む。一実施形態では、キメラ抗体またはその I L - 3 1 結合断片は、ネコ I g G 1 b 分子の重鎖定常領域および軽鎖定常領域を含む。

【0107】

一実施形態では、キメラ抗体またはその I L - 3 1 結合断片は、ネコ I g G 2 分子の重鎖定常領域を含む。一実施形態では、キメラ抗体またはその I L - 3 1 結合断片は、ネコ I g G 2 分子の軽鎖定常領域を含む。一実施形態では、キメラ抗体またはその I L - 3 1 結合断片は、ネコ I g G 2 分子の重鎖定常領域および軽鎖定常領域を含む。

【0108】

本明細書に記載の I L - 3 1 結合分子および異種部分を含むキメラ分子も本明細書に開示される。いくつかの実施形態では、異種部分は、検出可能部分、半減期延長部分、または治療部分であり得る。したがって、本明細書で使用される場合、「キメラ」分子は、1 またはそれを超える無関係な種類の成分を含むか、または互いにコンジュゲートされ得る、融合され得る、連結され得る、翻訳され得る、リンカーを介して結合され得る、化学合成され得る、核酸配列から発現され得るなどの2つまたはそれを超える化学的に異なる領域を含む「キメラ」分子である。例えば、ペプチドおよび核酸配列、ペプチドおよび検出可能な標識、無関係なペプチド配列などである。キメラ分子が異なる起源のアミノ酸配列を含む実施形態では、キメラ分子は、(1) 天然には一緒に見出されないポリペプチド配列（すなわち、アミノ酸配列の少なくとも1つは、その他のアミノ酸配列の少なくとも1つに関して異種である）、または(2) 天然には隣接していないアミノ酸配列を含む。例えば、本明細書で使用される「キメラ」抗体は、重鎖および／または軽鎖の一部が特定の供給源または種に由来し、重鎖および／または軽鎖の残りが異なる供給源または種に由来する抗体を指す。

【0109】

一実施形態では、本明細書に記載の抗原結合分子は、抗体またはその I L - 3 1 結合断片である。一実施形態では、抗体はキメラ抗体である。キメラ抗体の実例としては、V H および V L 配列がマウスに由来し、重鎖定常領域および軽鎖定常領域がマウス以外の種に由来する抗体分子（例えば、イヌ、ネコ、ウマ免疫グロブリン分子に由来する重鎖定常領域および軽鎖定常領域）が挙げられる。

【0110】

一実施形態では、キメラ抗体またはその I L - 3 1 結合断片は、イヌ免疫グロブリン分子の重鎖定常領域を含む。一実施形態では、キメラ抗体またはその I L - 3 1 結合断片は、イヌ免疫グロブリン分子の軽鎖定常領域を含む。さらなる一実施形態では、キメラ抗体またはその I L - 3 1 結合断片は、イヌ免疫グロブリン分子の重鎖定常領域および軽鎖定常領域を含む。

【0111】

一実施形態では、キメラ抗体またはその I L - 3 1 結合断片は、I g G A、I g G B、I g G C および I g G D からなる群から選択されるイヌ免疫グロブリン分子の重鎖定常領域を含む。一実施形態では、キメラ抗体またはその I L - 3 1 結合断片は、I g G A、I

10

20

30

40

50

g G B、I g G CおよびI g G Dからなる群から選択されるイヌ免疫グロブリン分子の軽鎖定常領域を含む。一実施形態では、キメラ抗体またはそのI L-31結合断片は、I g G A、I g G B、I g G CおよびI g G Dからなる群から選択されるイヌ免疫グロブリン分子の重鎖定常領域および軽鎖定常領域を含む。

【0112】

一実施形態では、キメラ抗体またはそのI L-31結合断片は、イヌI g G A分子の重鎖定常領域を含む。一実施形態では、キメラ抗体またはそのI L-31結合断片は、イヌI g G A分子の軽鎖定常領域を含む。一実施形態では、キメラ抗体またはそのI L-31結合断片は、イヌI g G A分子の重鎖定常領域および軽鎖定常領域を含む。

【0113】

一実施形態では、キメラ抗体またはそのI L-31結合断片は、イヌI g G B分子の重鎖定常領域を含む。一実施形態では、キメラ抗体またはそのI L-31結合断片は、イヌI g G B分子の軽鎖定常領域を含む。一実施形態では、キメラ抗体またはそのI L-31結合断片は、イヌI g G B分子の重鎖定常領域および軽鎖定常領域を含む。

【0114】

一実施形態では、キメラ抗体またはそのI L-31結合断片は、イヌI g G C分子の重鎖定常領域を含む。一実施形態では、キメラ抗体またはそのI L-31結合断片は、イヌI g G C分子の軽鎖定常領域を含む。一実施形態では、キメラ抗体またはそのI L-31結合断片は、イヌI g G C分子の重鎖定常領域および軽鎖定常領域を含む。

【0115】

一実施形態では、キメラ抗体またはそのI L-31結合断片は、イヌI g G D分子の重鎖定常領域を含む。一実施形態では、キメラ抗体またはそのI L-31結合断片は、イヌI g G D分子の軽鎖定常領域を含む。一実施形態では、キメラ抗体またはそのI L-31結合断片は、イヌI g G D分子の重鎖定常領域および軽鎖定常領域を含む。

【0116】

一実施形態では、イヌ免疫グロブリン分子は、イヌ免疫グロブリンガンマ重鎖Aである。一実施形態では、イヌ免疫グロブリンガンマ重鎖Aは、配列番号2のアミノ酸配列、またはそれと少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含むか、それからなるか、またはそれから本質的になる。一実施形態では、イヌ免疫グロブリンガンマ重鎖Aは、配列番号2のアミノ酸配列を含むか、それからなるか、またはそれから本質的になる。

【0117】

一実施形態では、キメラ抗体は、配列番号16のアミノ酸配列またはそれと少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む重鎖を含むか、それからなるか、またはそれから本質的になる。

【0118】

一実施形態では、キメラ抗体は、配列番号17のアミノ酸配列またはそれと少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む軽鎖を含むか、それからなるか、またはそれから本質的になる。

【0119】

一実施形態では、キメラ抗体は、配列番号16のアミノ酸配列を含む重鎖を含むか、それからなるか、またはそれから本質的になる。

【0120】

一実施形態では、キメラ抗体は、配列番号17のアミノ酸配列を含む軽鎖を含むか、それからなるか、またはそれから本質的になる。

【0121】

一実施形態では、V Hは配列番号14の核酸配列によってコードされる。一実施形態では、V Hは配列番号15の核酸配列によってコードされる。

【0122】

別の実施形態では、キメラ抗体またはそのI L-31結合断片は、ネコ免疫グロブリン分子の重鎖定常領域を含む。一実施形態では、キメラ抗体またはそのI L-31結合断片

10

20

30

40

50

は、ネコ免疫グロブリン分子の軽鎖定常領域を含む。さらなる一実施形態では、キメラ抗体またはその I L - 3 1 結合断片は、ネコ免疫グロブリン分子の重鎖定常領域および軽鎖定常領域を含む。

【 0 1 2 3 】

一実施形態では、キメラ抗体またはその I L - 3 1 結合断片は、I g G 1 a、I g G 1 b および I g G 2 からなる群から選択されるネコ免疫グロブリン分子の重鎖定常領域を含む。一実施形態では、キメラ抗体またはその I L - 3 1 結合断片は、I g G 1 a、I g G 1 b および I g G 2 からなる群から選択されるネコ免疫グロブリン分子の軽鎖定常領域を含む。一実施形態では、キメラ抗体またはその I L - 3 1 結合断片は、I g G 1 a、I g G 1 b および I g G 2 からなる群から選択されるネコ免疫グロブリン分子の重鎖定常領域および軽鎖定常領域を含む。

10

【 0 1 2 4 】

一実施形態では、キメラ抗体またはその I L - 3 1 結合断片は、ネコ I g G 1 a 分子の重鎖定常領域を含む。一実施形態では、キメラ抗体またはその I L - 3 1 結合断片は、ネコ I g G 1 a 分子の軽鎖定常領域を含む。一実施形態では、キメラ抗体またはその I L - 3 1 結合断片は、ネコ I g G 1 a 分子の重鎖定常領域および軽鎖定常領域を含む。

【 0 1 2 5 】

一実施形態では、キメラ抗体またはその I L - 3 1 結合断片は、ネコ I g G 1 b 分子の重鎖定常領域を含む。一実施形態では、キメラ抗体またはその I L - 3 1 結合断片は、ネコ I g G 1 b 分子の軽鎖定常領域を含む。一実施形態では、キメラ抗体またはその I L - 3 1 結合断片は、ネコ I g G 1 b 分子の重鎖定常領域および軽鎖定常領域を含む。

20

【 0 1 2 6 】

一実施形態では、キメラ抗体またはその I L - 3 1 結合断片は、ネコ I g G 2 分子の重鎖定常領域を含む。一実施形態では、キメラ抗体またはその I L - 3 1 結合断片は、ネコ I g G 2 分子の軽鎖定常領域を含む。一実施形態では、キメラ抗体またはその I L - 3 1 結合断片は、ネコ I g G 2 分子の重鎖定常領域および軽鎖定常領域を含む。

【 0 1 2 7 】

本開示はまた、例えば安定性および血清半減期を改善するために改変された重鎖および軽鎖定常領域配列の使用にも及ぶ。

【 0 1 2 8 】

非ヒト種（例えば、イヌ、ネコおよびウマ）の改変配列を含む適切な重鎖定常領域配列および軽鎖定常領域配列は当業者によく知られており、その実例は国際公開第 2 0 1 9 / 0 3 5 0 1 0 号に記載されており、その全内容は参照により本明細書に組み込まれる。

30

【 0 1 2 9 】

本明細書に記載の抗原結合分子をコードする核酸配列を含む単離された核酸分子も本明細書に開示される。一実施形態では、(i) 配列番号 1 2 と少なくとも 8 0 % の配列同一性を有する免疫グロブリン重鎖可変領域をコードする核酸配列および／または (i i) 配列番号 1 3 と少なくとも 8 0 % の配列同一性を有する免疫グロブリン軽鎖可変領域をコードする核酸配列を含む単離された核酸分子が提供される。

【 0 1 3 0 】

一実施形態では、免疫グロブリン重鎖可変領域をコードする核酸配列は、配列番号 1 4 の核酸配列を含む。

40

【 0 1 3 1 】

別の実施形態では、免疫グロブリン軽鎖可変領域をコードする核酸配列は、配列番号 1 5 の核酸配列を含む。

【 0 1 3 2 】

「ポリヌクレオチド」または「核酸」という用語は、本明細書では互換的に使用され、m R N A、R N A、c R N A、c D N A または D N A であり得るヌクレオチドのポリマーを指す。この用語は、典型的には、リボヌクレオチドもしくはデオキシヌクレオチド、またはいずれかのタイプのヌクレオチドの改変形態のいずれかの、少なくとも 1 0 塩基長の

50

ヌクレオチドのポリマー形態を指す。この用語は、DNAの一本鎖および二本鎖形態を含む。

【0133】

本明細書に記載されるIL-31結合分子をコードする核酸を含む発現ベクターも本明細書に開示される。

【0134】

「ベクター」とは、例えば、中に核酸配列が挿入またはクローン化され得るプラスミド、バクテリオファージまたはウイルスに由来する核酸分子、好ましくは、DNA分子を意味する。ベクターは、好ましくは、1またはそれを超える固有の制限部位を含有し、標的細胞もしくは組織またはその前駆細胞もしくは組織を含む定義された宿主細胞において自律複製することができ、またはクローン化された配列が再生可能であるように定義された宿主のゲノムと統合可能であり得る。したがって、ベクターは、自律複製ベクター、すなわち染色体外実体として存在し、その複製が染色体複製とは独立しているベクター、例えば直鎖または閉環状プラスミド、染色体外エレメント、ミニ染色体または人工染色体であり得る。ベクターは、自己複製を保証するための任意の手段を含み得る。あるいは、ベクターは、宿主細胞に導入されると、ゲノムに組み込まれ、組み込まれた染色体と共に複製されるものであり得る。ベクター系は、単一のベクターまたはプラスミド、宿主細胞のゲノムに導入される全DNAと一緒に含む2つまたはそれを超えるベクターまたはプラスミド、またはトランスポゾンを含み得る。ベクターの選択は、典型的には、ベクターが導入される宿主細胞とのベクターの適合性に依存する。ベクターはまた、適切な形質転換体の選択のために使用することができる抗生物質耐性遺伝子などの選択マーカーを含み得る。そのような耐性遺伝子の例は、当業者に周知である。

【0135】

一実施形態では、ベクターは、本明細書に記載のIL-31結合分子を対象に安全に投与し、対象においてIL-31結合分子の持続的発現を提供することを可能にするアデノ随伴ウイルス(AAV)ベクターである。

【0136】

アデノ随伴ウイルスは、パルボウイルス科のメンバーであり、約5,000ヌクレオチド未満の線状一本鎖DNAゲノムを含む。AAVは、効率的な複製のために、ヘルパーウイルス(すなわち、アデノウイルスまたはヘルペスウイルス)との共感染、またはヘルパー遺伝子の発現を必要とする。治療用核酸の投与に使用されるAAVベクターは、典型的には、DNA複製およびパッケージングのための認識シグナルを含有する末端反復配列(ITR)のみが残るように、親ゲノムの約96%が欠失している。これにより、ウイルス遺伝子の発現による免疫学的または毒性の副作用が排除される。さらに、特定のAAVタンパク質を産生細胞に送達することにより、必要に応じて、AAV ITRを含むAAVベクターを細胞ゲノムの特定の領域に組み込むことが可能になる(例えば、米国特許第6,342,390号および同第6,821,511号を参照)。組み込まれたAAVゲノムを含む宿主細胞は、細胞成長または形態の変化を示さない(例えば、米国特許第4,797,368号を参照)。

【0137】

AAV ITRは、非構造複製(Rep)タンパク質および構造カプシド(Cap)タンパク質(ビリオンタンパク質(VP)としても知られる)のための固有のコードヌクレオチド配列に隣接している。末端145ヌクレオチドは自己相補的であり、T字形ヘアピンを形成するエネルギー的に安定な分子内二重鎖が形成され得るように編成される。これらのヘアピン構造は、細胞DNAポリメラーゼ複合体のプライマーとして働くことによって、ウイルスDNA複製の起点として機能する。Rep遺伝子は、Repタンパク質Rep78、Rep68、Rep52、およびRep40をコードする。Rep78およびRep68はp5プロモーターから転写され、Rep52およびRep40はp19プロモーターから転写される。Rep78およびRep68タンパク質は、AAV末端の分解を可能にするために、生産的複製中にヘリカーゼおよびニッカーゼ機能を果たす多機能DN

10

20

30

40

50

A結合タンパク質である（例えば、Im et al., Cell, 61:447-57 (1990)を参照のこと）。これらのタンパク質はまた、内因性AAVプロモーターおよびヘルパーウイルス内のプロモーターからの転写を調節する（例えば、Pereira et al., J. Virol., 71:1079-1088 (1997)を参照のこと）。他のRepタンパク質は、Rep78およびRep68の機能を改変する。cap遺伝子は、キャプシドタンパク質VP1、VP2、およびVP3をコードする。cap遺伝子は、p40プロモーターから転写される。

【0138】

1またはそれを超える調節配列に作動可能に連結された、本明細書中に記載されるようなIL-31結合分子をコードする核酸配列を含む発現構築物も本明細書中に開示される。

10

【0139】

「構築物」という用語は、異なる供給源からの1またはそれを超える単離された核酸配列を含む組換え遺伝子分子を指す。したがって、構築物は、異なる起源の2つまたはそれを超える核酸配列が単一の核酸分子に集合したキメラ分子であり、（1）天然には一緒には見られない調節配列およびコード配列を含む核酸配列（すなわち、ヌクレオチド配列の少なくとも1つは、その他のヌクレオチド配列の少なくとも1つに対して異種である）、または（2）天然には隣接していない機能性RNA分子またはタンパク質の一部をコードする配列、または（3）天然には隣接していないプロモーターの一部を含む任意の構築物を含む。代表的な構築物には、1またはそれを超える核酸分子が作動可能に連結されている核酸分子を含む、任意の供給源に由来し、ゲノム組込みまたは自律複製が可能な、プラスミド、コスミド、ウイルス、自律複製ポリヌクレオチド分子、ファージ、または線状もしくは環状一本鎖もしくは二本鎖DNAもしくはRNA核酸分子などの任意の組換え核酸分子が含まれる。本発明の構築物は、一般に、例えば標的核酸配列またはモジュレーター核酸配列など、構築物にも含まれる目的の核酸配列の発現を指示するために必要なエレメントを含む。そのようなエレメントは、目的の核酸配列に（その転写を指示するように）作動可能に連結されたプロモーターなどの制御エレメントまたは調節配列を含んでもよく、ポリアデニル化配列も含むことが多い。本発明の特定の実施形態では、構築物はベクター内に含まれ得る。構築物の成分に加えて、ベクターは、例えば、1またはそれを超える選択マーカー、1またはそれを超える複製起点、例えば原核生物および真核生物の複製起点、少なくとも1つのマルチクローン化サイト、および／または構築物の宿主細胞のゲノムへの安定な組込みを促進するためのエレメントを含んでもよい。2つまたはそれを超える構築物は、単一のベクターなどの単一の核酸分子内に含まれ得るか、または2つまたはそれを超える別個のベクターなどの2つまたはそれを超える別個の核酸分子内に含まれ得る。「発現構築物」は、一般に、目的のヌクレオチド配列に作動可能に連結された少なくとも1つの制御配列を含む。このようにして、例えば、発現されるヌクレオチド配列と作動可能に関連するプロモーターが、宿主細胞を含む生物またはその一部における発現のための発現構築物において提供される。本発明の実施のために、構築物および宿主細胞を調製および使用するための従来の組成物および方法は、当業者に周知であり、例えば、Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 3rd edition Volumes 1, 2, and 3. J. F. Sambrook, D. W. Russell, and N. Irwin, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2000を参照されたい。

20

30

40

【0140】

本明細書で使用される「制御エレメント」、「制御配列」、「調節配列」などは、特定の宿主細胞における作動可能に連結されたコード配列の発現のために必要な核酸配列（例えば、DNA）を意味する。原核細胞に適した制御配列には、例えば、プロモーター、ならびに必要に応じてオペレーター配列およびリボソーム結合部位などのシス作用配列が含まれる。真核細胞に適した制御配列には、転写制御配列、例えばプロモーター、ポリアデニル化シグナル、転写エンハンサー、翻訳制御配列、例えば翻訳エンハンサーおよび内部

50

リボソーム結合部位（IRES）、mRNA安定性をモジュレートする核酸配列、ならびに転写されたポリヌクレオチドによってコードされる産物を細胞内の細胞内区画または細胞外環境に標的化する標的化配列が含まれる。

【0141】

本明細書で定義される構築物を含む宿主細胞も本明細書に開示される。

【0142】

「宿主」、「宿主細胞」、「宿主細胞株」および「宿主細胞培養物」という用語は互換的に使用され、外因性核酸が導入された細胞を指し、そのような細胞の子孫を含む。宿主細胞には、「形質転換体」および「形質転換細胞」が含まれ、これらには、初代形質転換細胞および継代数を問わずそれに由来する子孫が含まれる。子孫は、親細胞と核酸含有量が完全に同一でなくてもよいが、変異を含有してもよい。最初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学的活性を有する変異体子孫が本明細書に含まれる。宿主細胞は、本発明の抗原結合分子を生成するために使用することができる任意の種類の細胞系である。宿主細胞には、培養細胞、例えば哺乳動物培養細胞、例えばCHO細胞、BHK細胞、NSO細胞、SP2/O細胞、YO骨髓腫細胞、P3X63マウス骨髓腫細胞、PER細胞、PER.C6細胞またはハイブリドーマ細胞、酵母細胞、昆虫細胞、および植物細胞が含まれ、ほんの数例を挙げるだけだが、トランスジェニック動物、トランスジェニック植物または培養植物もしくは動物組織に含まれる細胞も含まれる。一実施形態では、宿主細胞はCHOまたはHEK293細胞株である。

10

20

【0143】

本明細書中に記載されるような改変されたIL-31結合分子を産生するための方法もまた提供され、そのような方法は、本明細書中に開示される宿主細胞を培養すること、および、宿主細胞または培養培地からIL-31結合分子を回収することを含む。

【0144】

本明細書に記載のIL-31結合分子またはベクターと、薬学的に許容され得る担体とを含む医薬組成物も本明細書に開示される。

【0145】

本明細書中の他の箇所で述べられるように、本発明者らは、本明細書中に開示されるIL-31結合分子が、どのような公知のIL-31抗原結合分子によっても結合されないIL-31のエピトープに、具体的には配列番号1のアミノ酸残基L29、Y32、Q33およびP40を含むIL-31のエピトープに結合することを見出した。IL-31のこのエピトープの同定は、有利には、同定されたエピトープまたはそのミモトープを、免疫原性組成物が対象に投与された場合に免疫応答を誘導するための免疫原性組成物として使用することを可能にする。したがって、本明細書に開示される一態様では、IL-31に対する免疫応答を引き起こすことができる免疫原性組成物であって、組成物が、(i) IL-31のB細胞エピトープを含む免疫原と、(ii) 薬学的に許容され得る担体とを含み、B細胞エピトープが、配列番号1のアミノ酸位置29～40に対応するアミノ酸配列、またはそれと少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、免疫原が、天然のIL-31分子のアミノ酸配列を含まない、免疫原性組成物が提供される。一実施形態では、免疫原は、配列番号1のアミノ酸位置29～40に対応するアミノ酸配列、またはそれと少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列からなる。別の実施形態では、免疫原は、配列番号1のアミノ酸位置29～40に対応するアミノ酸配列からなる。本明細書の他の箇所で述べられているように、「少なくとも80%の配列同一性」への言及は、例えば、最適アライメントまたは最適分析後の、参照配列と80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%または100%の配列同一性を含む。

30

40

【0146】

「薬学的に許容され得る担体」とは、生物学的にまたは他の点で望ましくないものではない材料から構成される医薬ビヒクルを意味し、すなわち、その材料は、いかなるまたは

50

実質的な有害反応も引き起こさずに、選択された活性薬剤と共に対象に投与され得る。担体は、賦形剤および他の添加剤、例えば希釈剤、洗剤、着色剤、湿潤剤または乳化剤、pH緩衝剤、防腐剤などを含み得る。

【0147】

代表的な薬学的に許容され得る担体には、当業者には公知であるように（例えば、参照により本明細書に組み込まれる Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th Ed. Mack Printing Company, 1990, pp. 1289-1329 を参照されたい）、ありとあらゆる溶媒、分散媒、コーティング、界面活性剤、酸化防止剤、防腐剤（例えば、抗菌剤、抗真菌剤）、等張剤、吸収遅延剤、塩、防腐剤、薬物、薬物安定剤、ゲル、結合剤、賦形剤、崩壊剤、滑沢剤、甘味剤、香味剤、染料、例えば同様の材料およびそれらの組み合わせが含まれる。任意の従来の担体が活性成分（複数可）と適合しない場合を除き、医薬組成物におけるその使用が企図される。

10

【0148】

医薬組成物は、様々な形態であり得る。これらには、例えば、液体、半固体および固体剤形、例えば、液体液剤（例えば、注射可能および注入可能な液剤）、分散液剤または懸濁剤、リポソームおよび坐剤が含まれる。好ましい形態は、意図される投与様式および治療用途に依存する。適切な医薬組成物は、静脈内、皮下または筋肉内に投与され得る。いくつかの実施形態では、組成物は、注射可能または注入可能な液剤の形態である。好ましい投与様式は非経口（例えば、静脈内、皮下、腹腔内、筋肉内）である。特定の実施形態では、医薬組成物は、静脈内注入または注射によって投与される。他の実施形態では、医薬組成物は、筋肉内または皮下注射によって投与される。

20

【0149】

本明細書で使用される「非経口投与」および「非経口的に投与される」という語句は、通常は注射による経腸および局所投与以外の投与様式を意味し、静脈内、筋肉内、動脈内、髄腔内、嚢内、眼窩内、心臓内、皮内、腹腔内、経気管、皮下、表皮下、関節内、被膜下、くも膜下、脊髄内、硬膜外および胸骨内の注射および注入が含まれるが、これらに限定されない。

【0150】

非経口投与用の調製物には、滅菌水性液剤または非水性液剤、懸濁剤、および乳剤が含まれる。非水性溶媒の例は、プロピレングリコール、ポリエチレングリコール、オリーブ油などの植物油、およびオレイン酸エチルなどの注射可能な有機エステルである。水性担体には、食塩水および緩衝媒体を含む、水、アルコール性／水性溶液、エマルジョンまたは懸濁液が含まれる。本発明では、薬学的に許容され得る担体としては、0.01～0.1 M、好ましくは0.05 Mのリン酸緩衝液または0.8%食塩水が挙げられるが、これらに限定されない。他の一般的な非経口ビヒクルとしては、リン酸ナトリウム溶液、リンゲルデキストロース、デキストロースおよび塩化ナトリウム、乳酸リンゲル液または固定油が挙げられる。静脈内ビヒクルとしては、流体および栄養補充剤、リンゲルデキストロースに基づくものなどの電解質補充剤などが挙げられる。防腐剤および他の添加剤、例えば、抗微生物剤、酸化防止剤、キレート剤、および不活性ガスなども存在することができる。

30

40

【0151】

より具体的には、注射用途に適した医薬組成物には、滅菌水性液剤（水溶性の場合）または分散液剤、および滅菌注射液剤または分散液剤の即時調製のための滅菌粉剤・散剤（sterile powder）が含まれる。そのような場合、組成物は無菌でなければならず、容易な注射針通過性（syringability）が存在する程度に流動性でなければならない。これは、製造および貯蔵の条件下で安定であるべきであり、好ましくは細菌および真菌などの微生物の汚染作用から保護される。担体は、例えば、水、エタノール、ポリオール（例えば、グリセロール、プロピレングリコール、および液体ポリエチレングリコールなど）、およびそれらの適切な混合物を含有する溶媒または分散媒であり得る。適切な流動性は

50

、例えば、レシチンなどのコーティングの使用および／または必要な粒径の管理によって維持することができる。特定の実施形態では、本開示の薬剤は、細胞送達のためにビヒクルにコンジュゲートされ得る。これらの実施形態では、薬剤は、標的細胞への薬剤の送達を助けるため、薬剤の安定性を高めるため、または薬剤の潜在的な毒性を最小限に抑えるために、適切なビヒクルに封入され得る。当業者には理解されるように、様々なビヒクルが本開示の薬剤を送達するのに適している。適切な構造化流体送達系の非限定的な例としては、ナノ粒子、リポソーム、マイクロエマルジョン、ミセル、デンドリマーおよび他のリン脂質含有系が挙げられ得る。本開示の薬剤を送達ビヒクルに組み込む方法は、当技術分野で公知である。様々な実施形態を以下に提示するが、本明細書に記載の抗原結合分子を送達ビヒクルに組み込むための当技術分野で公知の他の方法が企図されることが理解されよう。

10

【0152】

投与レジメンは、最適な所望の応答（例えば、治療応答）を提供するように調整される。例えば、単回ボラスを投与してもよく、いくつかの分割用量を経時的に投与してもよく、または治療状況の緊急性によって示されるように用量を比例的に減少または増加させてもよい。本開示の抗原結合分子は、複数の場合に投与することができる。単回投与間の間隔は、毎日、毎週、毎月または毎年であり得る。間隔はまた、患者における改変ポリペプチドまたは抗原の血中レベルを測定することによって示されるように不規則であり得る。あるいは、抗原結合分子は、徐放製剤として投与することができ、その場合、必要とされる投与頻度は少ない。投与量および頻度は、患者におけるポリペプチドの半減期に応じて変化する。

20

【0153】

投与の容易さおよび投与量の均一性のために、組成物を単位剤形で製剤化することが有利であり得る。本明細書で使用される単位剤形は、処置される対象のための単位投与量として適した物理的に別個の単位を指す。各単位は、必要とされる薬学的に許容され得る担体と関連して所望の治療効果をもたらすように計算された所定の分量の活性化化合物を含有する。本発明の単位剤形の仕様は、（a）活性化化合物の固有の特徴および達成される特定の治療効果、ならびに（b）個体における感受性の処置のためにそのような活性化化合物を配合する技術に固有の制限によって規定され、それらに直接依存する。

【0154】

抗原結合分子の投与量および治療レジメンは、当業者によって決定することができる。特定の実施形態では、抗原結合分子は、約0.01～40mg/kg、例えば、0.01～0.1mg/kg、例えば約0.1～1mg/kg、約1～5mg/kg、約5～25mg/kg、約10～40mg/kg、または約0.4mg/kgの用量で注射（例えば、皮下または静脈内）によって投与される。投与スケジュールは、例えば、1週間に1回から2、3、または4週間毎に1回まで変動し得る。一実施形態では、抗原結合分子は、約10～20mg/kgの用量で隔週投与される。本開示の抗原結合分子の有効量の例示的な非限定的範囲は、0.01～5mg/kg、より適切には0.03～2mg/kgである。

30

【0155】

投与量の値は、緩和される状態の種類および重症度によって異なり得ることに留意されたい。任意の特定の対象について、特定の投与レジメンは、個々の必要性および組成物を投与または投与を監督する者の専門的判断に従って経時的に調整されるべきであり、本明細書に記載の投与量範囲は例示的なものにすぎず、特許請求される組成物の範囲または実施を限定することを意図するものではないことをさらに理解されたい。

40

【0156】

本発明の医薬組成物は、有効量の本明細書に開示される薬剤（すなわち、IL-31結合分子）を含んでもよい。有効量は、「治療有効量」または「予防有効量」であり得る。「治療有効量」は、所望の治療結果を達成するために、必要な投与量および期間で有効な量を指す。薬剤の治療有効量は、疾患状態、個体の年齢、性別および体重、ならびに薬剤

50

が個体において所望の応答を誘発する能力などの因子に応じて変動し得る。治療有効量はまた、薬剤の任意の毒性または有害作用に、治療的に有益な作用が勝るものである。あるいは、組成物のこの特性は、当業者に公知のアッセイによって、例えばインビトロで化合物が阻害する能力を調べることによって評価することができる。

【0157】

対照的に、「予防有効量」は、所望の予防結果を達成するために、必要な投与量および期間で有効な量を指す。典型的には、予防用量は疾患の前または疾患の初期段階で対象に使用されるので、予防有効量は治療有効量よりも少ない。

【0158】

IL-31の発現の増加および／または活性の増加に関連する状態を処置または予防する方法であって、本明細書に記載の抗原結合分子、ペクター、または医薬組成物を、投与することを必要とする対象に投与することを含む方法もまた、本明細書に開示される。

【0159】

本明細書で使用される「処置すること (treating)」という用語は、(1) 状態の1またはそれを超える症状の出現を遅延させること；(2) 状態または状態の1またはそれを超える症状の発症を阻害すること；(3) 状態を軽減すること、すなわち、状態または状態の少なくとも1またはそれを超える症状の退行を引き起こすこと；および／または(4) 状態または状態の1またはそれを超える症状の重症度の低下を引き起こすことを指し得る。

【0160】

「処置すること」、「処置 (treatment)」などの用語は、本明細書では互換的に使用され、状態の1またはそれを超える症状を含む、状態を軽減、低減、緩和、改善または他の方法で阻害することを意味する。「予防する (prevent)」、「予防すること (preventing)」、「予防 (prophylaxis)」、「予防 (prophylactic)」、「予防的 (preventative)」などの用語は、本明細書では、状態の発症、または状態を発症するリスクを予防することまたは遅延させることを意味するために互換的に使用される。

【0161】

「処置すること」、「処置」などの用語はまた、少なくとも一定期間にわたって状態の効果を軽減、低減、緩和、改善または他の方法で阻害することを含む。「処置すること」、「処置」などの用語は、状態またはその症状が永続的に軽減、低減、緩和、改善または他の方法で阻害されることを意味するものではなく、したがって、状態またはその症状の一時的な軽減、低減、緩和、改善または他の方法での阻害も包含することも理解されるべきである。

【0162】

本明細書で互換的に使用される「対象」、「患者」、「宿主」または「個体」という用語は、処置を必要とする任意の動物を指す。対象は、典型的には、哺乳動物、鳥類および魚類を含むがこれらに限定されない非ヒト対象を包含し、適切には、家庭動物、農場動物、動物園動物および野生動物、例えばウシ、ブタ、ウマ、ヤギ、ヒツジまたは他の有蹄類の動物、イヌ、ネコ、ニワトリ、アヒル、非ヒト霊長類、モルモット、ウサギ、フェレット、ラット、ハムスターおよびマウスを包含する。一実施形態では、対象は、イヌ、ネコおよびウマからなる群より選択される。一実施形態では、対象はイヌである。一実施形態では、対象はネコである。一実施形態では、対象はウマである。

【0163】

IL-31の異常な（例えば、増加）レベルおよび／または異常な（例えば、増加）活性に関連する状態は当業者によく知られており、その実例としては、慢性掻痒性皮膚障害、例えばアトピー性湿疹、ならびに非皮膚科学的状態、例えばアレルギー性喘息および鼻炎、炎症性腸疾患、悪性腫瘍（例えば、がん）、および骨粗鬆症が挙げられる。

【0164】

一実施形態では、IL-31の発現の増加および／または活性の増加に関連する状態は

、掻痒症および皮膚炎からなる群から選択される。一実施形態では、状態はアトピー性皮膚炎である。一実施形態では、状態は掻痒症である。

【0165】

対象におけるIL-31の発現の増加および／または活性の増加に関連する状態を処置、阻害または改善するのに使用するための、本明細書に記載の抗原結合分子またはベクターも本明細書で提供される。

【0166】

本明細書中に記載されるような、IL-31の異常な（例えば、増加）レベルおよび／または異常な（例えば、増加）活性に関連する状態の処置、阻害、または改善を必要とする対象において処置、阻害、または改善するための医薬の製造における、本明細書に記載のIL-31結合分子またはベクターの使用も本明細書で提供される。

10

【0167】

IL-31の発現の増加またはIL-31に対する感受性の増加によって引き起こされる、それに関連する、またはそれから生じる状態の処置または予防を必要とする対象において処置または予防する方法であって、本明細書中に記載のIL-31結合分子またはベクターを、投与することを必要とするイヌ対象に投与することを含む方法も本明細書に開示される。

【0168】

対象におけるIL-31の発現の増加またはIL-31に対する感受性の増加によって引き起こされる、それに関連する、またはそれから生じる状態の処置に使用するための、本明細書に記載されるIL-31結合分子、またはベクター、または医薬組成物も本明細書に開示される。

20

【0169】

本開示はまた、対象におけるIL-31の発現の増加またはIL-31に対する感受性の増加によって引き起こされる、それに関連する、またはそれから生じる状態の処置のための医薬の製造における、本明細書中に記載されるIL-31結合分子またはベクターの使用にも及ぶ。

【0170】

本開示はまた、IL-31によって増殖が誘導される腫瘍およびそれに関連する状態を処置または予防するための方法であって、本明細書に記載されるIL-31結合分子、またはベクター、または医薬組成物を、投与することを必要とする対象に投与することを含む方法にも及ぶ。

30

【0171】

IL-31によって増殖が誘導される腫瘍およびそれに関連する状態の処置または予防を必要とする対象における、IL-31によって増殖が誘導される腫瘍およびそれに関連する状態の処置または予防において使用するための、本明細書に記載のIL-31結合性分子、またはベクター、または医薬組成物も本明細書で提供される。

【0172】

本開示はまた、IL-31によって増殖が誘導される腫瘍およびそれに関連する状態の処置または予防を必要とする対象における、その処置または予防のための医薬の製造における、本明細書中に記載されるIL-31結合分子またはベクターの使用にも及ぶ。

40

【0173】

本開示はまた、本明細書中に記載されるIL-31結合分子またはベクターまたは医薬組成物を含むキットにも及ぶ。

【0174】

また、試料中のIL-31を検出するための、本明細書中に記載されるIL-31結合分子またはベクターの使用も本明細書中に開示される。

【0175】

本明細書で使用される場合、「および／または」は、関連する列挙された1またはそれを超える項目のありとあらゆる可能な組み合わせ、ならびに代替（または）で解釈される

50

場合は組み合わせの欠如を指し、包含する。

【0176】

本出願で使用される場合、単数形「a」、「an」および「the」は、文脈が明らかに別段の指示がない限り、複数の言及を含む。例えば、「薬剤 (an agent)」という用語は、その混合物を含む複数の薬剤 (agents) を含む。

【0177】

「約」とは、基準の分量、レベル、値、数、頻度、パーセンテージ、寸法、サイズ、量、重量または長さに対して15、14、13、12、11、10、9、8、7、6、5、4、3、2または1%程度に変化する分量、レベル、値、数、頻度、パーセンテージ、寸法、サイズ、量、重量または長さを意味する。

【0178】

本明細書および以下の記述を通して、文脈上別段の要求がない限り、「含む (comprise)」という単語、ならびに「含む (comprises)」および「含むこと (comprising)」などの変形形態は、記載された整数もしくはステップまたは整数もしくはステップの群を含むが、任意の他の整数もしくはステップまたは整数もしくはステップの群を除外しないことを意味すると理解される。

【0179】

本明細書における任意の先行する刊行物（またはそれに由来する情報）または任意の既知の事項への言及は、その先行する刊行物（またはそれに由来する情報）または既知の事項が、本明細書が関連する取り組みの分野における共通の一般知識の一部を形成することの承認として、許可として、任意の形態の示唆として解釈されず、そのように解釈されるべきではない。

【0180】

当業者は、本明細書に記載された本発明が具体的に記載されたもの以外の変形および修正を受けやすいことを理解する。本発明は、その趣旨および範囲内にあるすべてのそのような変形および修正を含むことを理解されたい。本発明はまた、本明細書で言及または指示されるステップ、特徴、組成物および化合物のすべてを個別にまたは集合的に含み、上記ステップまたは特徴の任意の2つまたはそれを超えるありとあらゆる組み合わせを含む。

【0181】

ここで、本発明の特定の実施形態を、例示目的のみを意図し、上記の一般性の範囲を限定することを意図しない以下の実施例を参照して説明する。

【実施例】

【0182】

実施例1：イヌインターロイキン31 (IL-31) を認識するマウスモノクローナル抗体の作製

C末端で6アミノ酸のHis-Tagに融合した142アミノ酸（アクセッション番号NP_001159386のアミノ酸残基24～159；配列番号1）を含むSf9バキュロウイルス細胞で産生された組換えイヌIL-31 (ProSpec-Tany、イスラエル) を免疫原として使用して、Balb/cマウスにおいて抗体を生成した。

イヌIL-31タンパク質

【化1】

SHMAPTHQLPPSDVRKIILELQPLSRGLLEDYQKKETGVPEsnrTLLLCLTSDS

QPRLNssAILPYfRAIRPLSDKNIIDKIEQLDKLKFQHEPETEISVPADTFECKS

FILTIQQFSACLESVFKSLNSGPQ (配列番号1)

【0183】

酵素結合免疫吸着アッセイ (ELISA) を使用して、免疫マウスからの抗体価を決定

10

20

30

40

50

した。イヌIL-31 (100 ng/ウェル) をポリスチレンマイクロプレートに固定し、捕捉抗原として使用し、PBS/0.05% Tween (登録商標) 20/1% BSAでブロッキングした。コーティングされたウェルを、PBS/0.05% Tween (登録商標) 20/1% BSA (100 µl/ウェル) で希釈したモノクローナル抗体 (mAb) と共に室温で1時間インキュベートした。1000 ng/ml~1.37 ng/mlの範囲のmAb濃度を使用して、標準曲線を確立した。洗浄後、プレートを、PBS/0.05% Tween (登録商標) 20/1% BSA中、1/10,000希釈アルカリホスファターゼコンジュゲートAffiniPureヤギ抗マウスIgG (サブクラス1+2a+2b+3)、Fcγ断片特異的 (Jackson Immuno Research Laboratories, Inc) またはアルカリホスファターゼコンジュゲートウサギ抗イヌIgG (分子全体; Sigma) と共にインキュベートした。プレートをPBS/0.05% Tween (登録商標) 20で洗浄し、3, 3', 5, 5'-テトラメチルベンジジン (TMB) 基質の添加によって発色させた。100 µlの2M H₂SO₄を添加することによって発色を停止し、450 nmの光学密度 (OD) で各ウェルの吸光度を決定した。

10

【0184】

イヌIL-31タンパク質 (配列番号1) で免疫した3匹のマウスの脾臓を単離し、標準的な技術 (例えば Albitar (2007; Methods in Molecular Biology; Monoclonal Antibodies Volume 378 | Development and Characterization of Mouse Hybridomas, 10.1007/978-1-59745-323-3 (第1章) を参照) を用いてハイブリドーマ生成に個別に使用した。融合後、ハイブリドーマをマルチウェルプレートにプレーティングした。マイクロアレイELISAフォーマットを使用して、イヌIL-31への結合について6000ウェルをスクリーニングした。

20

【0185】

スクリーニング中に同定された候補のうち、1つのハイブリドーマは、イヌIL-31に対する良好な結合およびイヌIL-31活性の阻害を示した。このハイブリドーマを続いてクローニングし、配列決定した (クローン名称RA4.D2)。

【0186】

RA4.D2についてのサブクロンの重鎖可変領域 (VH) および軽鎖可変領域 (VL) の配列を、ハイブリドーマから得られたcDNAからのVH領域およびVL領域のPCR増幅によって得た。VHおよびVL遺伝子配列の分析は、IMGT/V-Quest program (International Immunogenetics Information System; http://www.imgt.org/IMGT_vquest/vquest) を使用して行った。

30

【0187】

キメラ抗体chRA4を産生するために、マウスモノクローナル抗体RA4の重鎖可変配列を配列番号2 (GenBank: AAL35301のアミノ酸位置138~468に対応) のイヌ免疫グロブリンγ重鎖Aの定常領域に融合し、軽鎖可変配列を以下に示すようにIMGTからのIGKC*01対立遺伝子 (アクセッション番号IMGT000067) に対応する定常領域に融合した:

40

イヌ重鎖定常領域

【化 2】

ASTTAPSVFPLAPSCGSTSGSTVALACLVSIFYPEPVTVSWNSGSLTSGVHTFP
 SVLQSSGLHSLSSMVTVPSSRWPSETFTCNVVHPASNTKVDKPVFNECRCTDT
 PPCPVPEPLGGPSVLIFPPKPKDILRITRTPEVTCVVLDLGREDPEVQISWFVDG
 KEVHTAKTQSREQQFNGTYRVVSVLPIEHQDWLTGKEFKCRVNHIDLPSPIER
 TISKARGRAHKPSVYVLPSPKELSSSDTVSITCLIKDFYPPDIDVEWQSNGQQE
 PERKHRMTPPQLDEDGSYFLYSKLSVDKSRWQQGDPFTCAVMHETLQNHYT
 DLSLSHSPGK (配列番号2)

10

イヌ κ 軽鎖定常領域

【化 3】

RNDAQPAVYLFQSPDQLHTGSASVVCLLNSFYPKDINVKKVDGVIQDTGI
 QESVTEQDKDSTYLSSTLTMSSTEYLSHELYSCEITHKSLPSTLIKSFRSECQ
 RVD (配列番号 80)

【表 1 A】

20

表1A:モノクローナル抗体 RD4.D2 の重鎖 (HC) 可変領域および軽鎖 (LC) 可変領域の CDR 配列 (IMGT 定義)

	HC_CDR1	HC_CDR2	HC_CDR3
RA4.D2	GYTFTDYS (配列番号 6)	INTETGKT (配列番号 7)	ASGRPDY (配列番号 8)
	LC_CDR1	LC_CDR2	LC_CDR3
RA4.D2	ESVEYYGTSL (配列番号 9)	AAS (配列番号 10)	QQSRKVPYT (配列番号 11)

30

40

50

【表 1 B】

表1B: モノクローナル抗体 RD4.D2の重鎖(HC)可変領域および軽鎖(LC)可変領域のCDR 配列
(Kabatナンバリングを使用して同定)

	HC_CDR1	HC_CDR2	HC_CDR3
RA4.D2	DYSMH (配列番号 93)	WINTETGKTIHAEDF KG (配列番号 94)	GRPDY (配列番号 95)
	LC_CDR1	LC_CDR2	LC_CDR3
RA4.D2	RASESVEYYGTSL MQ (配列番号 96)	AASGVES (配列番号 97)	QQRKVPYT (配列番号 98)

10

マウスモノクローナル抗体 R A 4 . D 2 の重鎖 (V H) 可変領域および軽鎖 (V L) 可変領域のアミノ酸配列 (C D R 配列 (I M G T 同定) に下線を引いている)

R A 4 _ _ V H

20

【化 4】

QIQLVQSGPELKPKGETVKISKASGYTFTDYSMHWVKQAPGKGLRWMGW
NTETGKTIHAEDFKGRVAFSLETSASTAYLQINNLKNEDTATYFCASGRPDYW
 GQGTTTLTVSS (配列番号12)

R A 4 _ _ V L

【化 5】

DIVLSQSPASLAVSLGQRATISCRASESVEYYGTSLMQWYQKPGQPPKLLIY
AASGVESGVPARFSGSGSGTDFSLIHPVEEDDIAMYFCQQRKVPYTFGGG
 GTK
 LEIKRADAAPTVS (配列番号13)

30

マウスモノクローナル抗体 R A 4 . D 2 の重鎖 (V H) 可変領域および軽鎖 (V L) 可変領域をコードするヌクレオチド配列

R A 4 _ _ 重鎖可変領域 (V H)

【化 6】

CAGATCCAGTTGGTGCAGTCTGGACCTGAGCTGAAGAAGCCAGGAGAGAC
 AGTCAAGATCTCCTGCAAGGCTTCTGGTTATACCTTCACAGACTATTCAAT
 GCACTGGGTGAAGCAGGCTCCAGGAAAGGGTTTAAGGTGGATGGGCTGGA
 TAAACACTGAGACTGGTAAGACAATACACGCAGAAGACTTCAAGGGACGG
 GTTGCCCTTCTCTTTGGAAACCTCTGCCAGCACTGCCTATTTGCAGATCAAC
 AACCTCAAAAATGAGGACACGGCTACATATTTCTGTGCTAGCGGGCGGCC
 TGACTACTGGGGCCAAGGCACCACTCTCACAGTCTCCTCA (配列番号 14)

40

50

R A 4 __ 軽鎖可変領域 (V L) ; (κ 軽鎖)

【化 7】

GACATTGTGCTCTCCCAATCTCCAGCTTCTTTGGCTGTGTCTCTAGGGCAGA
GAGCCACCATCTCCTGCAGAGCCAGTGAAAGTGTTGAATATTATGGCACA
AGTTTGATGCAGTGGTACCAACAGAAGCCAGGACAGCCACCCAAACTCCT
CATCTATGCTGCATCCGGCGTAGAATCTGGGGTCCCTGCCAGGTTTAGTGG
CAGTGGGTCTGGGACAGACTTCAGCCTCATCATCCATCCTGTGGAGGAGG
ATGATATTGCAATGTATTTCTGTCAGCAAAGTAGGAAGGTTCCGTACACGT
TCGGAGGGGGGACCAAACCTGGAAATAAAACGG (配列番号15)

10

キメラ R A 4 . D 2 抗体の重鎖 (H C) 領域および軽鎖 (L C) 領域のアミノ酸配列
c h R A 4 __ H C

【化 8】

QIQLVQSGPELKPKGETVKISCKASGYTFTDYSMHVVKQAPGKGLRWMGWI
NTETGKTIHAEDFKGRVAFSLETSASTAYLQINNKNEDTATYFCASGRPDYW
GQGTTTLTVSSASTTAPSVFPLAPSCGSTSGSTVALACLVSIFYPEPVTVSWNSG
SLTSGVHTFPSVLQSSGLHSLSSMVTVPSSRWPSSETFTCNVVHPASNTKVDKP
VFNECRCTDTPPCPVPEPLGGPSVLIFPPKPKDILRITRTPEVTCVVLDLGREDP
EVQISWFDVGKEVHTAKTQSREQQFNGTYRVVSVLPIEHQDWLTGKEFKCRV
NHIDLPSPIERTISKARGRAHKPSVYVLPSPKELSSSDTVSITCLIKDFYPPDIDV
EWQSNQSQEPERKHRMTPPQLDEDGSYFLYSKLSVDKSRWQQGDPFTCAVM
HETLQNHYTELSDLSHSPGK (配列番号16)

20

30

c h R A 4 __ L C

【化 9】

DIVLSQSPASLAVSLGQRATISCRASESVEYYGTSLMQWYQQKPGQPPKLLIY
AASGVESGVPARFSGSGSGTDFSLIHPVEEDDIAMYFCQQSRKVPYTFGGGK
LEIKRNDAQPAVYLFQSPDQLHTGSASVCLLNSFYPKDINVKWKVDGVIQD
TGIQESVTEQDKDSTYSLSSTLTMSSTEYLSHELYSCEITHKSLPSTLIKSFQRSE
CQRVD (配列番号17)

40

【 0 1 8 8 】

イヌ化 R A 4 モノクローナル抗体を産生するために、マウスモノクローナル抗体 R A 4 の重鎖可変配列および軽鎖可変配列のフレームワーク領域をイヌ重鎖フレームワーク領域およびイヌ軽鎖フレームワーク領域で置換した。B L A S T 検索アルゴリズムおよび上位 2 0 0 の B L A S T 結果から選択された候補イヌ可変ドメインを使用して、マウス重鎖可変ドメインおよび軽鎖可変ドメインとの比較のためにイヌ抗体配列を検索した。主要なフレームワーク残基およびカノニカルループ構造を維持するフレームワーク相性の組み合わせに基づいて、上位候補を選択した。

【 0 1 8 9 】

イヌ化 R A 4 重鎖可変領域および軽鎖可変領域のアミノ酸配列を以下に示す：

50

R A 4 イヌ化重鎖

V H C 5

【化 1 0】

EVQLVQSGPEVKKPGESVKVSCCKTSGYTFTDYSMHWVRQAPGKGLRWMGW
INTETGKTIHAEDFKGRVTLTADTSTSTAYMQLSSLRAEDIAVYFCASGRPDY
WGQGTTLTVSS (配列番号 99)

V H C 6

10

【化 1 1】

QVQLVQSGAEVKKPGESVKVSCCKTSGYTFTDYSMHWVRQAPGKGLDWMG
WINTETGKTIHAEDFKGRVTLTADTSTSTAYMELSSLRAGDIAVYFCASGRPD
YWGQGTTLTVSS (配列番号 100)

R A 4 イヌ化軽鎖

V L C 6

20

【化 1 2】

EIVLTQSPASLSLSQGEKVTITCRASESVEYYGTSLMQWYQQKPGQAPKLLIY
AASGVESGVPSRFSGSGSGTDFSFTISSLEPEDVAVYFCQQSRKVPYTFGGGTK
LEIK (配列番号 101)

30

40

50

【表 2 - 1】

表2: イヌ化IL-31結合分子の重鎖(VH1)および軽鎖(VL)フレームワーク領域 (FR1~4)のアミノ酸配列:

	イヌ化 VH フレームワーク領域(FR)配列	
VH1	FR1 QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVS (配列番号18) FR2 WVRQRTGRGLEWMG (配列番号19) FR3 RLSITRDTAKSQVSLQMSSMTTEDTATYYCAR (配列番号20) FR4 WGQGTSVTVSS (配列番号21)	10
VH2	FR1 QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVS (配列番号22) FR2 WVRQRPGRGLEWMG (配列番号23) FR3 RLSITRDTAKSQVSLQMSSMTTEDTATYYCAR (配列番号24) FR4 WGQGTLVTVSS (配列番号25)	
VH3	FR1 QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVS (配列番号26) FR2 WVRQRPGRGLEWMG (配列番号27) FR3 RISITRDTAKSQVSLQLSSMTTEDTATYYCAR (配列番号28) FR4 WGQGTLVTVSS (配列番号29)	20
VH4	FR1 EVTLQESGPGLVKPSQTLSTCTVS (配列番号30) FR2 WVRQRPGRGLEWMG (配列番号31) FR3 RISITRDTAKNQVSLQLSSMTTEDTATYYCAR (配列番号32) FR4 WGQGTLVTVSS (配列番号33)	
VH5	FR1 EVTLQESGPGLVKPSQTLSTCVVS (配列番号34) FR2 WVRQRPGRGLEWMG (配列番号35) FR3 RISITRDTAKNQVSLQLSSMTTEDTAVYYCAR (配列番号36) FR4 WGQGTLVTVSS (配列番号37)	30
VH6	FR1 EVQLVQSGPEVKKPGESVKVCKTS (配列番号81) FR2 WVRQAPGKGLRWMG (配列番号82) FR3 RVTLTADTSTSTAYMQLSSLRAEDIAVYFC (配列番号83) FR4 WGQGTTLVTVSS (配列番号84)	
VH7	FR1 QVQLVQSGAEVKKPGESVKVCKTS (配列番号85)	40

【表 2 - 2】

	FR2 WVRQAPGKGLDWMG (配列番号86) FR3 RVTLTADTSTSTAYMELSSLRAGDIAVYFC (配列番号87) FR4 WGQGTTLTVSS (配列番号88)
VL1	FR1 DIQMTQSPASLSLSQEEKVTITC (配列番号38) FR2 WYQQKPGQAPKLLIY (配列番号39) FR3 GVPSRFSGSGSGTDYSFTISSLESEDVASYFC (配列番号40) FR4 FGAGTKVELK (配列番号41)
VL2	FR1: DIQMTQSPASLSLSQEEKVTITC (配列番号42) FR2: WYQQKPGQAPKLLIY (配列番号43) FR3: GVPSRFSGSGSGTDYSFTISSLEPEDVASYFC (配列番号44) FR4: FGAGTKVELK (配列番号45)
VL3	FR1: EIVMTQSPASLSLSQEEKVTITC (配列番号46) FR2: WYQQKPGQAPKLLIY (配列番号47) FR3: GVPSRFSGSGSGTDYSFTISSLEPEDVASYFC (配列番号48) FR4: FGAGTKVELK (配列番号49)
VL4	FR1: EIVMTQSPASLSLSQEEKVTITC (配列番号50) FR2: WYQQKPGQAPKLLIY (配列番号51) FR3: GVPSRFSGSGSGTDYSFTISSLEPEDVAVYFC (配列番号52) FR4: FGAGTKVELK (配列番号53)
VL5	FR1: EIVLTQSPASLSLSQGEKVTITC (配列番号89) FR2: WYQQKPGQAPKLLIY (配列番号90) FR3: GVPSRFSGSGSGTDFSTISSLEPEDVAVYFC (配列番号91) FR4: FGGGTKLEIK (配列番号92)

10

20

30

【0190】

ネコ化 R A 4 モノクローナル抗体を産生するために、マウスモノクローナル抗体 R A 4 の重鎖可変配列および軽鎖可変配列のフレームワーク領域をネコ重鎖フレームワーク領域配列およびネコ軽鎖フレームワーク領域配列で置換する。B L A S T 検索アルゴリズムを使用して、マウス重鎖および軽鎖可変ドメインとの比較のためにネコ抗体配列を検索し、上位 200 の B L A S T 結果から候補ネコ可変ドメインを選択する。主要なフレームワーク残基およびカノニカルループ構造を維持するフレームワーク相同性の組み合わせに基づいて、上位候補を選択する。

40

50

【表 3】

表 3: ネコ化 IL-31 結合分子の重鎖 (VH) および軽鎖 (VL) フレームワーク領域 (FR1~4) のアミノ酸配列の実例:

	VH フレームワーク領域配列
	FR1: QVQLMESGADLVQPSESLRLTCVAS (配列番号54) FR2: WVRQAPGKGLEWMG (配列番号55) FR3: RLITRDTSKNTVFLQMHSLSQSEDTATYYCAR (配列番号56) FR4: WGQGTTVTVSA (配列番号57)
	VL フレームワーク領域配列
	FR1: DIEMTQSPLSLSATPGETVSISC (配列番号58) FR2: WYLQKPGRSPRLLIY (配列番号59) FR3: GVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVQTEDVGVYFC (配列番号60) FR4: FGQGTKLELK (配列番号61)

10

20

【0191】

実施例 2: イヌ IL-31、ネコ IL-31 および イヌ IL-31 変異体に対するモノクローナル抗体 RA4 の結合の決定

マウスモノクローナル抗体 RA4 が以前に発表された抗 IL-31 抗体 M14 (米国特許第 10,093,731 B2 号に記載) および mAb 34D03 (米国特許第 8790651 B2 号に記載) によって標的化される イヌ IL-31 の領域に結合したかどうかを評価するために、(i) 配列番号 1 のアミノ酸位置 76、77、80、81 および 84 (イヌ IL-31 変異体 1; 配列番号 62) ならびに (ii) 配列番号 1 のアミノ酸位置 13、15、20 および 26 (イヌ IL-31 変異体 2; 配列番号 63) に導入されたアラニン置換を有する 2 つの変異体 イヌ IL-31 タンパク質を作製した。アラニン置換の標的とした イヌ IL-31 変異体 1 および 2 のアミノ酸位置は、それぞれ イヌ IL-31 への 34D03 および M14 の結合に関与すると以前に決定された。

30

【0192】

イヌ IL-31 変異体 1 および 2 ならびに ネコ IL-31 タンパク質のアミノ酸配列を以下に提供する:

イヌ IL-31 変異体 1 (アラニン置換は太字および下線のテキストによって特定される)

【化 13】

SHMAPTHQLPPSDVRKIILELQPLSRGLLEDYQKKETGVPEsnRTLLLCLTSDS
QPPRLNSSAILPYFRAIRPLSAANIAAKIAEQLDKLFQHEPETEISVPADTFECK
SFILTILQQFSACLESVFKSLNSGPQ (配列番号62)

40

イヌ IL-31 変異体 2 (アラニン置換は太字および下線のテキストによって特定される)

50

【化 1 4】

SHMAPTHQLPPSAVAKIILALQPLSAGLLEDYQKKETGVPESNRTLCLTSDS
 QPPRLNSSAILPYFRAIRPLSDKNIIDKIEQLDKLKFQHEPETEISVPADTFECKS
 FILTILQQFSACLESVFKSLNSGPQ (配列番号63)

ネコ IL-31

【化 1 5】

SHMAPAHLQPSDVRKIILELRPMSKGLLQDYLKKEIGLPESNHSSLPCLSSDS
 QLPHINGSAILPYFRAIRPLSDKNTIDKIEQLDKLKFQREPEAKVSMPADNFER
 KNFILAVLQQFSACLEHVLQSLNSGPQ (配列番号64)

10

【0193】

精製マウス RA4 および組換えキメラ RA4 mAb を、上記のように ELISA によってイヌ IL-31 への結合について分析した。図 1 に示されるように、キメラ抗体 RA4 (chRA4) は、ELISA によって決定して、イヌ IL-31 に用量依存的様式で結合した。これらの結合データと一致して、chRA4 は、イヌ DH82 細胞におけるイヌ IL-31 誘導性 STAT-3 リン酸化の阻害によって証明されるように、イヌ IL-31 活性をインビトロで中和することが示された (図 2)。イヌ単球細胞株における IL-31 媒介 pSTAT3 シグナル伝達を中和する RA4 mAb の能力を以下のように評価した：イヌ DH-82 細胞を 10 ng/mL のイヌガンマインターフェロンで 24 時間前処理し、次いで 2 時間血清飢餓にした。細胞上清をイヌ IL-31 (160 ng/mL) と共に 60 分間インキュベートした。次いで、RA4/IL-31 混合物を細胞に 5 分間添加し、pSTAT3 ELISA (STAT-3 (Phospho) [pY705] Multispecies ELISA キット、Invitrogen) を使用して STAT リン酸化を評価した。

20

【0194】

RA4 mAb が以前に発表された抗 IL-31 抗体 M14 および 34D03 によって標的化されるイヌ IL-31 の領域に結合したかどうかを評価するために、(i) 配列番号 1 のアミノ酸位置 76、77、80、81 および 84 (イヌ IL-31 変異体 1；配列番号 62) ならびに (ii) 配列番号 1 のアミノ酸位置 13、15、20 および 26 (イヌ IL-31 変異体 2；配列番号 63) に導入されたアラニン置換を有する 2 つの変異体イヌ IL-31 タンパク質を作製した。

30

【0195】

図 3 に示されるように、RA4 は、イヌ IL-31、ネコ IL-31 (配列番号 64) ならびにイヌ IL-31 変異体タンパク質である変異体 1 (配列番号 62) および変異体 2 (配列番号 63) の両方に結合した。M14 は、イヌ IL-31 およびイヌ IL-31 変異体 1 に結合したが、イヌ IL-31 変異体 2 には有意な結合を示さなかった。M14 はネコ IL-31 への最小結合を示す。34D03 はイヌ IL-31 およびより少ない程度ではあるがネコ IL-31 にも結合したが、変異体 1 または変異体 2 のいずれにも有意な結合を示さなかった。RA4 は、これらの研究においてヒト IL-31 に結合しなかった。

40

【0196】

実施例 3：抗 caIL-31 mAb クローン RA4 についてのイヌインターロイキン 31 (caIL-31) 上の結合エピトープの同定

上記の実施例 2 で述べたように、マウス RA4 mAb は、抗イヌ IL-31 mAb M14 および 34D03 の結合に関与する重要な残基に結合しない。

50

【 0 1 9 7 】

R A 4 に結合するイヌ I L - 3 1 の領域を定義するために、下記に示されるように、多くのキメラおよび切断型のイヌ I L - 3 1 ペプチドを作製した（図 4 A も参照のこと）。ヒト I L - 3 1 由来アミノ酸配列を下線付きのテキストによって特定する）：
イヌ I L - 3 1 （配列番号 1）

【 化 1 6 】

SHMAPTHQLPPSDVRKIILELQPLSRGLLEDYQKKETGVPEsnrtlllcltSDS
QPPRLNssailpyfRAIRPLSDKNIIDKIIeQLDKLKFQHEPETEISVPADTFECKS
FILTILQQFSACLESVFKSLNSGPQ

10

イヌ／ヒト c h I L - 3 1 _ c 1 2 3 _ h 4

【 化 1 7 】

SHMAPTHQLPPSDVRKIILELQPLSRGLLEDYQKKETGVPEsnrtlllcltSDS
QPPRLNssailpyfRAIRPLSDKNIIDKIIeQLDKLKFQHEPETNISVPTDTHECKR
FILTISQQFSECMDLALKSLTSGAQQATT (配列番号 65)

20

イヌ／ヒト c h I L - 3 1 _ c 1 2 _ h 3 4

【 化 1 8 】

SHMAPTHQLPPSDVRKIILELQPLSRGLLEDYQKKETGVPEsnrtlllcltSDS
QPPRLNssailpyfRAIRPLSDKSVIDEIIeHLDKLIFQDAPETNISVPTDTHECKR
FILTISQQFSECMDLALKSLTSGAQQATT (配列番号 66)

イヌ／ヒト c h I L - 3 1 _ c 1 _ h 2 3 4

【 化 1 9 】

SHMAPTHQLPPSDVRKIILELQPLSRGLLEDYQKKETGVPEsnrtlllclSPDA
QPPNNIHSPAIRAYLKTIRQLDNKSVIDEIIeHLDKLIFQDAPETNISVPTDTHEC
KRFILTISQQFSECMDLALKSLTSGAQQATT (配列番号 67)

30

【 0 1 9 8 】

図 5 において同定されたイヌ I L - 3 1 タンパク質のアミノ酸配列は以下のとおりである：

イヌ I L - 3 1 _ N 末端

【 化 2 0 】

SHMAPTHQLPPSDVRKIILELQPLSRGLLEDYQKKETGVPEsnrtlllC
(配列番号 68)

40

イヌ I L - 3 1 _ N 末端 _ 2 0 _ 1

【 化 2 1 】

SHMAPTHQLPPSDVRKIILE (配列番号 69)

50

イヌ I L - 3 1 __ N 末 端 __ 2 0 __ 2
【化 2 2】

PSDVRKIILELQPLSRGLLE (配列番号 70)

イヌ I L - 3 1 __ N 末 端 __ 2 0 __ 3
【化 2 3】

LQPLSRGLLEDYQKKETGVP (配列番号 71)

10

イヌ I L - 3 1 __ N 末 端 __ 2 0 __ 4
【化 2 4】

DYQKKETGVPESNRTLCL (配列番号 72)

【 0 1 9 9 】

図 7 において同定されたイヌ I L - 3 1 タンパク質のアミノ酸配列は以下のとおりである：

イヌ I L - 3 1
【化 2 5】

20

MLSHTGPSRFALFLCSMETLLSSHMAPTHQLPPSDVRKIILELQPLSRGLLED
YQKKETGVPESNRTLCLTSDSQPPRLNSSAILPYFRAIRPLSDKNIIDKIEQL
DKLKFQHEPETEISVPADTFECKSFILTILQQFSACLESVFKSLNSGPQH HHHHHH
(配列番号 73)

イヌ I L - 3 1 __ 4 x M U T __ c o m b o
【化 2 6】

30

MLSHTGPSRFALFLCSMETLLSSHMAPTHQLPPSDVRKIILELQPLSRGLAED
AAKKETGVAESNRTLCLTSDSQPPRLNSSAILPYFRAIRPLSDKNIIDKIEQL
DKLKFQHEPETEISVPADTFECKSFILTILQQFSACLESVFKSLNSGPQH HHHHHH
(配列番号 74)

イヌ I L - 3 1 __ L 2 9 A
【化 2 7】

40

MLSHTGPSRFALFLCSMETLLSSHMAPTHQLPPSDVRKIILELQPLSRGLAED
YQKKETGVPESNRTLCLTSDSQPPRLNSSAILPYFRAIRPLSDKNIIDKIEQL
DKLKFQHEPETEISVPADTFECKSFILTILQQFSACLESVFKSLNSGPQH HHHHHH
(配列番号 75)

イヌ I L - 3 1 __ Y 3 2 A

50

【化 2 8】

MLSHTGPSRFALFLLCSMETLLSSHMAPTHQLPPSDVRKIILELQPLSRGLLED
 AQKKETGVPESNRTLLLCLTSDSQPPRLNSSAILPYFRAIRPLSDKNIIDKIEQL
 DKLKQHEPETEISVPADTFECKSFILTILQQFSACLESVFKSLNSGPQHIIHHHHH
 (配列番号76)

イヌ I L - 3 1 _ Q 3 3 A

【化 2 9】

MLSHTGPSRFALFLLCSMETLLSSHMAPTHQLPPSDVRKIILELQPLSRGLLED
 YAKKETGVPESNRTLLLCLTSDSQPPRLNSSAILPYFRAIRPLSDKNIIDKIEQL
 DKLKQHEPETEISVPADTFECKSFILTILQQFSACLESVFKSLNSGPQHIIHHHHH
 (配列番号77)

10

イヌ I L - 3 1 _ P 4 0 A

【化 3 0】

MLSHTGPSRFALFLLCSMETLLSSHMAPTHQLPPSDVRKIILELQPLSRGLLED
 YQKKETGVAESNRTLLLCLTSDSQPPRLNSSAILPYFRAIRPLSDKNIIDKIEQL
 DKLKQHEPETEISVPADTFECKSFILTILQQFSACLESVFKSLNSGPQHIIHHHHH
 (配列番号78)

20

【0 2 0 0】

様々な I L - 3 1 タンパク質およびペプチドへの結合を E L I S A によって評価した。I L - 3 1 タンパク質またはペプチド (100 ng / ウェル) を捕捉抗原としてポリスチレンマイクロプレートに固定した。ウェルを P B S / 0 . 0 5 % T w e e n (登録商標) 20 / 1 % B S A でブロッキングした。コーティングしたウェルを、P B S / 0 . 0 5 % T w e e n (登録商標) 20 / 1 % B S A (100 μ l / ウェル) で希釈した抗 I L - 3 1 m A b と共に室温で1時間インキュベートした。洗浄後、プレートを、P B S / 0 . 0 5 % T w e e n (登録商標) 20 / 1 % B S A 中の、1 / 10 , 000 希釈アルカリホスファターゼコンジュゲートウサギ抗イヌ I g G (分子全体) (S i g m a) と共にインキュベートした。プレートを P B S / 0 . 0 5 % T w e e n (登録商標) 20 で洗浄し、T M B 基質の添加によって発色させた。100 u l E L I S A ストップ溶液 (I n v i t r o g e n) を添加することによって発色を停止し、450 nm の光学密度 (O D) で各ウェルの吸光度を決定した。

30

【0 2 0 1】

図 4 B に示されるように、R A 4 m A b は、I L - 3 1 のヘリックス A を組み込むイヌ I L - 3 1 (配列番号1) の最初の49アミノ酸を含有するイヌ / ヒト I L - 3 1 キメラタンパク質に結合する。ヘリックス B、C および D に対するイヌ配列のヒト配列による置換は結合を無効にせず、R A 4 m A b のエピトープがイヌ I L - 3 1 の N 末端領域に存在することを実証した。

40

【0 2 0 2】

R A 4 m A b のエピトープをさらに定義するために、20アミノ酸の重複ペプチドを生成した (図 5 A) 。図 5 B における E L I S A データによって示されるように、R A 4 m A b は、イヌ I L - 3 1 の最初の50アミノ酸を含有するペプチドおよび成熟イヌ I L - 3 1 のアミノ酸残基30~40を含有するペプチド3に結合する。R A 4 m A b によ

50

って結合されるエピトープは、抗イヌIL-31抗体M14および34D03によって標的化されるエピトープとは異なる。図3のデータと一致して、34D03はイヌIL-31のN末端領域に結合しないようであり、これは、34D03によって結合されるエピトープがヘリックスB/Cに見出されることを示唆している。対照的に、M14は、イヌIL-31のアミノ酸残基1~20を含むペプチド1のみに結合した。これらのデータは、RA4 mAbが、M14および34D03について以前に記載されていないイヌIL-31の固有のエピトープに結合することを示す。

【0203】

それぞれが異なる残基に単一のアラニン変異を有する25個のペプチドからなる、配列番号1のアミノ酸残基18~42を包含する領域のアラニンスキャニングライブラリーを生成した（IILELQPLSRGLLEDYQKKETGVPEES；配列番号79）。上記のように、各ペプチドへのRA4 mAbの結合をELISAによって決定した。

【0204】

図6に示されるように、各ペプチドへの結合が一連の第1のペプチドへの結合のパーセンテージとして示されており、データは、アラニンに置換されたとき、RA4のイヌIL-31への結合に深刻な影響を与えた4つの重要な残基を実証している。L29A、Y32A、Q33AおよびP40Aに対応するアラニン変異はすべて、イヌIL-31ペプチドへの結合を第1のペプチドの15%未満に減少させた。さらに3つの残基がイヌIL-31への結合に重要であることも示され、アラニン残基に置換すると、結合が50%未満に減少した（K35A、V39AおよびS42A）。

【0205】

RA4 mAbによって標的化される固有のエピトープの確認を、上記で同定されたアラニンに置換された4つの重要な残基のそれぞれ、およびアラニンに置換された4つすべての残基を組み合わせて有するバージョンを含む全長イヌIL-31タンパク質に対するRA4 mAbの結合を評価することによって行った。ヒスチジンタグ付きタンパク質は、一過性トランスフェクション後に哺乳動物細胞で生成され、ニッケルアフィニティークロマトグラフィーを介して精製された。上記のように、各タンパク質へのRA4 mAbおよびM14 mAbの結合をELISAによって決定した。図7に示されるように、キメラRA4 mAbは、野生型イヌIL-31タンパク質への結合と比較すると、単一のアミノ酸アラニン置換ですべてのタンパク質に結合することができた（図7A）。4つすべての残基（L29、Y32、Q33およびP40）を組み合わせてアラニンに置換した場合、イヌIL-31への結合は検出されなかった。対照的に、M14 mAbは、すべての変異体タンパク質および野生型イヌIL-31タンパク質に等しく良好に結合した。これらのデータは、イヌIL-31のアミノ酸残基L29、Y32、Q33およびP40を含むエピトープ（配列番号1）がRA4 mAbに固有であることを示す。

10

20

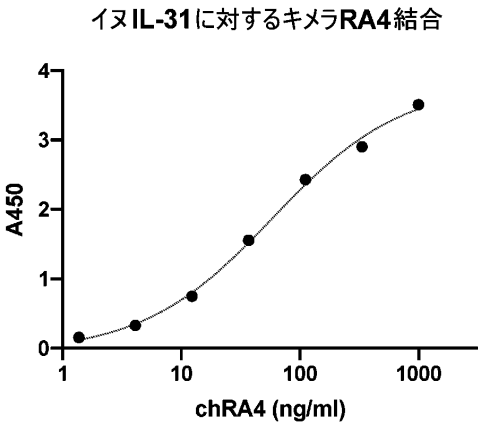
30

40

50

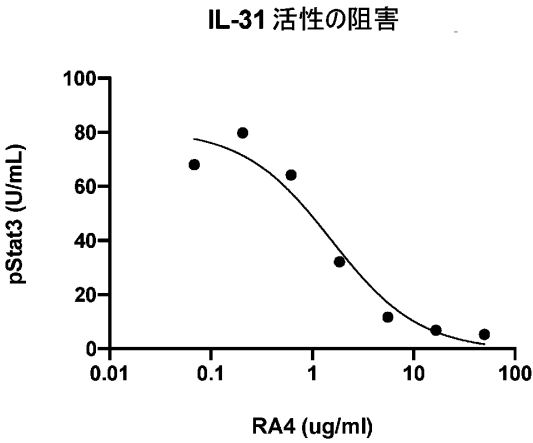
【図面】
【図 1】

Figure 1



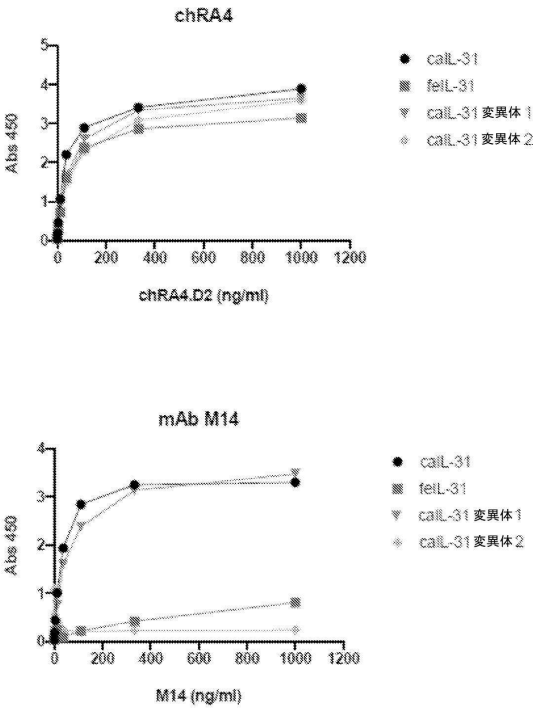
【図 2】

Figure 2



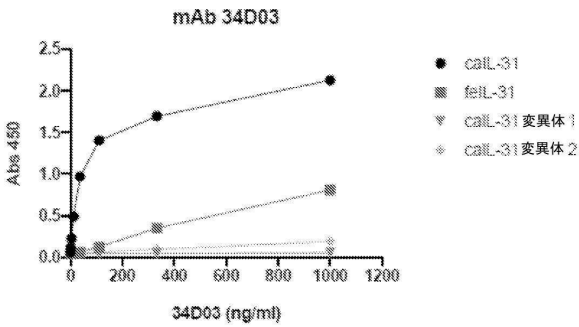
【図 3 - 1】

Figure 3



【図 3 - 2】

Figure 3 続き



10

20

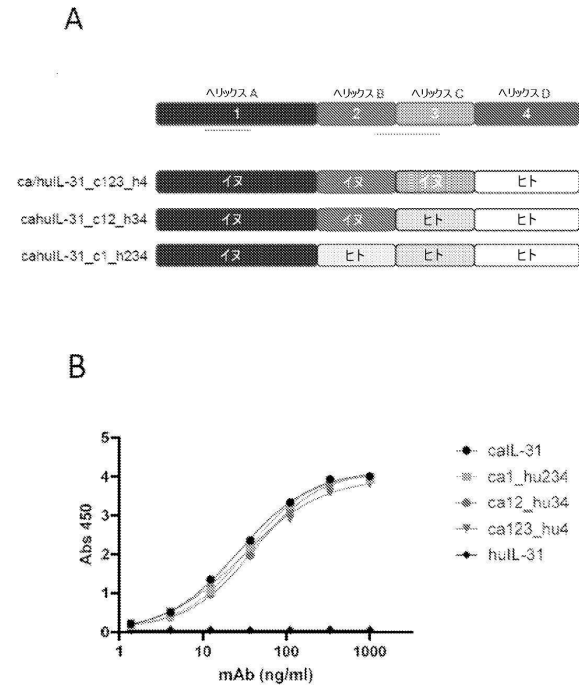
30

40

50

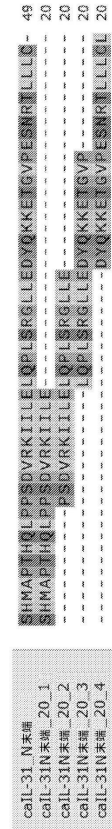
【図 4】

Figure 4



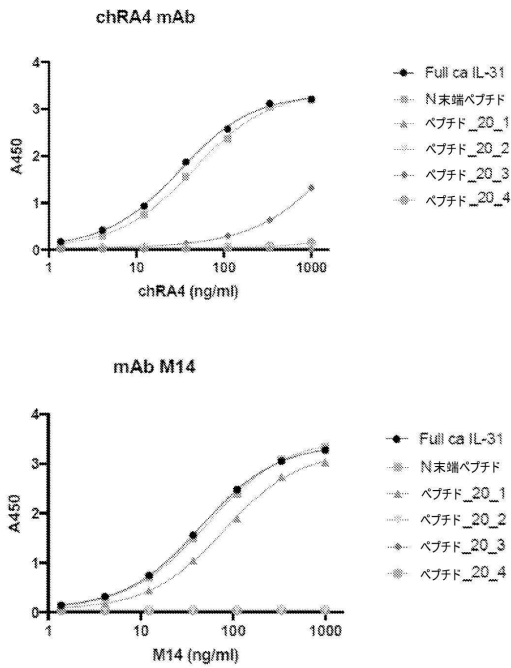
【図 5 A】

Figure 5A



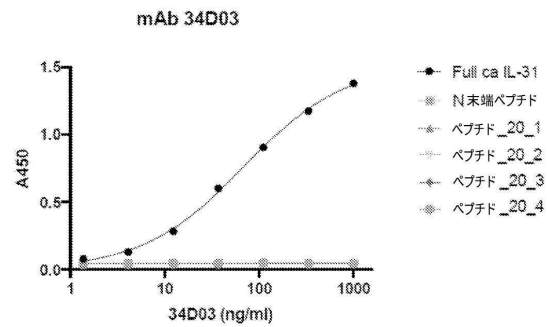
【図 5 B - 1】

Figure 5B



【図 5 B - 2】

Figure 5B 続き



10

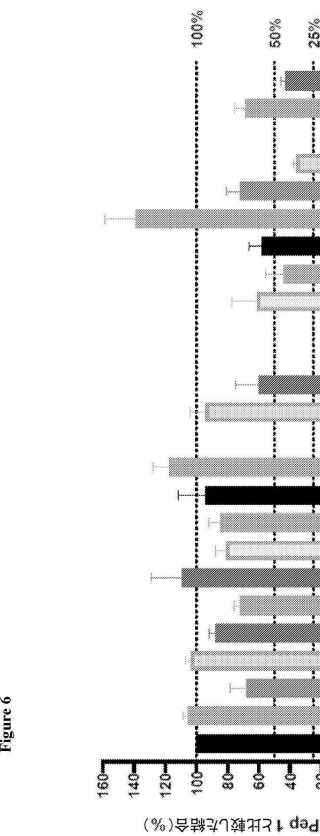
20

30

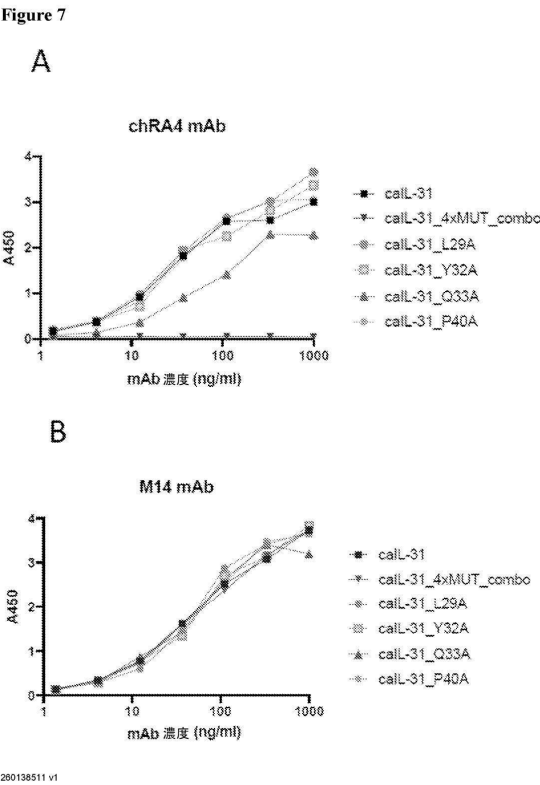
40

50

【図 6】



【図 7】



【配列表】

202355062800001.app

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US 21/60369

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC - C07K 16/24, G01N 33/577, C12N 15/13 (2022.01)

CPC - C07K 16/244, A61P 37/06, G01N 33/6869, A61K 2039/54, C07K 2317/56, C07K 2317/565

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

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

See Search History document

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

See Search History document

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

See Search History document

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US 2019/0389944 A1 (ZOETIS SERVICES LLC) 26 December 2019 (26.12.2019). para [0191]-[0192], [0197], [0323], Abstract	1-3
A	WO 2014/185771 A2 (GENENTECH INC.) 9 October 2014 (09.10.2014). para [0309], Claim 9, Seq ID No: 8	1, 3/1
A	WO 2019/008377 A1 (UCL BUSINESS PLC) 10 January 2019 (10.01.2019). Claim 1, Claim 40, Seq ID No: 148	1, 3/1
A	WO 2009/138494 A2 (ABLYNX N.V.) 19 November 2009 (19.11.2009). Claim 71, Seq ID No: 148	1, 3/1
A	WO 2016/094837 A2 (IGENICA BIOTHERAPEUTICS, INC.) 16 June 2016 (16.06.2016). Claim 2, Seq ID No: 1467	1, 3/1
A	US 2019/0300610 A1 (HUMMINGBIRD BIOSCIENCE PTE. LTD.) 03 October 2019 (03.10.2019). para [0279], [0504], Seq ID No: 67	1, 3/1

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

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"D" document cited by the applicant in the international application

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

24 January 2022

Date of mailing of the international search report

FEB 15 2022

Name and mailing address of the ISA/US

Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents

P.O. Box 1450, Alexandria, Virginia 22313-1450

Facsimile No. 571-273-8300

Authorized officer

Karl Rodriguez

Telephone No. PCT Helpdesk: 571-272-4300

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

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US 21/60369

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 2018/109170 A2 (SINGAPORE HEALTH SERVICES PTE LTD) 21 June 2018 (21.06.2018), Claim 1, Claim 8, SEQ ID NO 29	1, 3/1
A	US 2019/0284272 A1 (ZOETIS SERVICES LLC) 19 September 2019 (19.09.2019), Claim 5, Abstract	2, 3/2
A	US 2018/0244766 A1 (KINDRED BIOSCIENCES, INC.) 30 August 2018 (30.08.2018), para [0005], Seq ID No: 22	2, 3/2, 51-53
A	WO 2019/118512 A2 (UBI IP HOLDINGS) 20 June 2019 (20.06.2019), pg 4 ln 19-23, pg 10 ln 21-24, pg 19 ln 31-35, pg 21 ln 20-25, Table 1, SEQ ID NO 1	2, 3/2, 51-53
A	WO 2016/062720 A1 (SAIBA GMBH) 28 April 2016 (28.04.2016), pg 46 ln 10, Claim 52, SEQ ID NO 44	51

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

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US 21/60369

Box No. I	Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.c of the first sheet)
1.	With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing: a. ☒ forming part of the international application as filed: ☒ in the form of an Annex C/ST.25 text file. ☐ on paper or in the form of an image file. b. ☐ furnished together with the international application under PCT Rule 13ter.1(a) for the purposes of international search only in the form of an Annex C/ST.25 text file. c. ☐ furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search only: ☐ in the form of an Annex C/ST.25 text file (Rule 13ter.1(a)). ☐ on paper or in the form of an image file (Rule 13ter.1(b) and Administrative Instructions, Section 713). 2. ☐ In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that forming part of the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished. 3. Additional comments:

Form PCT/ISA/210 (continuation of first sheet (1)) (July 2019)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US 21/60369

Box No. II	Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)	
This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:		
1.	☐ Claims Nos.: because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:	10
2.	☐ Claims Nos.: because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:	
3.	☒ Claims Nos.: 4-50 because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).	20
Box No. III	Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)	
This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:		
1.	☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.	
2.	☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.	30
3.	☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:	
4.	☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:	
Remark on Protest	☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee. ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation. ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.	40

Form PCT/ISA/210 (continuation of first sheet (2)) (July 2019)

フロントページの続き

(51)国際特許分類

F I

テーマコード (参考)

C 1 2 N 5/10 (2006.01)
C 1 2 N 15/63 (2006.01)
C 1 2 N 15/864 (2006.01)
A 6 1 K 39/395 (2006.01)
A 6 1 K 35/76 (2015.01)
A 6 1 P 35/00 (2006.01)
A 6 1 P 17/06 (2006.01)
A 6 1 P 17/00 (2006.01)
A 6 1 K 38/10 (2006.01)

C 1 2 N 5/10
C 1 2 N 15/63 Z
C 1 2 N 15/864 1 0 0 Z
A 6 1 K 39/395 D
A 6 1 K 39/395 U
A 6 1 K 35/76
A 6 1 P 35/00
A 6 1 P 17/06
A 6 1 P 17/00
A 6 1 K 38/10

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

弁護士 山本 健策

(72)発明者 バスフィールド, サマンサ ジェイ.

アメリカ合衆国 ペンシルベニア 1 9 1 0 3, フィラデルフィア, エヌ. 1 8 ティーエイチ
 ストリート 1 0 0, スイート 3 0 0, スカウト バイオ, インコーポレイテッド 気付

(72)発明者 ウィルソン, マシュー ジェイ.

アメリカ合衆国 ペンシルベニア 1 9 1 0 3, フィラデルフィア, エヌ. 1 8 ティーエイチ
 ストリート 1 0 0, スイート 3 0 0, スカウト バイオ, インコーポレイテッド 気付

F ターム (参考)

4B065 AA90X AA90Y AB01 AC14 BA02 CA25 CA43
 4C084 AA02 AA03 BA01 BA08 BA18 BA23 CA59 NA14 ZA89 ZB26
 4C085 AA13 AA14 BB18 BB31 BB36 DD62 EE01
 4C087 AA01 AA02 AA03 BB65 BC83 CA12 NA14 ZA89 ZB26 ZC61
 4H045 AA11 AA30 BA10 CA40 DA76 EA20 FA74