(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号
特許第7333789号
(P7333789)

(45)発行日　令和5年8月25日(2023.8.25)

(24)登録日　令和5年8月17日(2023.8.17)

(51)国際特許分類

		FI		
C07K 16/18 (2006.01)		C07K	16/18	ZNA
A61K 39/395 (2006.01)		A61K	39/395	N
A61P 37/02 (2006.01)		A61P	37/02	

請求項の数　4　（全94頁）

(21)出願番号　特願2020-555924(P2020-555924)
(86)(22)出願日　平成31年4月12日(2019.4.12)
(65)公表番号　特表2021-521206(P2021-521206A)
(43)公表日　令和3年8月26日(2021.8.26)
(86)国際出願番号　PCT/JP2019/015919
(87)国際公開番号　WO2019/198807
(87)国際公開日　令和1年10月17日(2019.10.17)
審査請求日　令和4年3月2日(2022.3.2)
(31)優先権主張番号　特願2018-77527(P2018-77527)
(32)優先日　平成30年4月13日(2018.4.13)
(33)優先権主張国・地域又は機関
日本国(JP)
(31)優先権主張番号　特願2018-188770(P2018-188770)
(32)優先日　平成30年10月4日(2018.10.4)
最終頁に続く

(73)特許権者　000003311
中外製薬株式会社
東京都北区浮間５丁目５番１号
(74)代理人　100102118
弁理士　春名 雅夫
(74)代理人　100102978
弁理士　清水 初志
(74)代理人　100160923
弁理士　山口 裕孝
(74)代理人　100119507
弁理士　刑部 俊
(74)代理人　100142929
弁理士　井上 隆一
(74)代理人　100148699
弁理士　佐藤 利光
最終頁に続く

(54)【発明の名称】　抗補体成分抗体および使用方法

(57)【特許請求の範囲】

【請求項１】

C1qとC1r2s2複合体との間の相互作用を阻害する単離された抗体であって、C1sのCUB1-EGF-CUB2ドメイン内のエピトープに特異的に結合し、かつ該エピトープへの結合に関して、以下の1）～5）：

1）SEQ ID NO:32のHVR-H1配列、SEQ ID NO:33のHVR-H2配列、SEQ ID NO:34のHVR-H3配列、SEQ ID NO:35のHVR-L1配列、SEQ ID NO:36のHVR-L2配列およびSEQ ID NO:37のHVR-L3配列を含む抗体、

2）SEQ ID NO:38のHVR-H1配列、SEQ ID NO:39のHVR-H2配列、SEQ ID NO:40のHVR-H3配列、SEQ ID NO:41のHVR-L1配列、SEQ ID NO:42のHVR-L2配列およびSEQ ID NO:43のHVR-L3配列を含む抗体、

3）SEQ ID NO:44のHVR-H1配列、SEQ ID NO:45のHVR-H2配列、SEQ ID NO:46のHVR-H3配列、SEQ ID NO:47のHVR-L1配列、SEQ ID NO:48のHVR-L2配列およびSEQ ID NO:49のHVR-L3配列を含む抗体、

4）SEQ ID NO:50のHVR-H1配列、SEQ ID NO:51のHVR-H2配列、SEQ ID NO:52のHVR-H3配列、SEQ ID NO:53のHVR-L1配列、SEQ ID NO:54のHVR-L2配列およびSEQ ID NO:55のHVR-L3配列を含む抗体、ならびに

5）SEQ ID NO:56のHVR-H1配列、SEQ ID NO:57のHVR-H2配列、SEQ ID NO:58のHVR-H3配列、SEQ ID NO:59のHVR-L1配列、SEQ ID NO:60のHVR-L2配列およびSEQ ID NO:61のHVR-L3配列を含む抗体、

からなる群より選択される抗体と競合するか、または
C1rのCUB1-EGF-CUB2ドメイン内のエピトープに特異的に結合し、かつ該エピトープへの結合に関して、以下の6）～13）：
6）SEQ ID NO:119のHVR-H1配列、SEQ ID NO:127のHVR-H2配列、SEQ ID NO:135のHVR-H3配列、SEQ ID NO:143のHVR-L1配列、SEQ ID NO:151のHVR-L2配列およびSEQ ID NO:159のHVR-L3配列を含む抗体、
7）SEQ ID NO:120のHVR-H1配列、SEQ ID NO:128のHVR-H2配列、SEQ ID NO:136のHVR-H3配列、SEQ ID NO:144のHVR-L1配列、SEQ ID NO:152のHVR-L2配列およびSEQ ID NO:160のHVR-L3配列を含む抗体、
8）SEQ ID NO:121のHVR-H1配列、SEQ ID NO:129のHVR-H2配列、SEQ ID NO:137のHVR-H3配列、SEQ ID NO:145のHVR-L1配列、SEQ ID NO:153のHVR-L2配列およびSEQ ID NO:161のHVR-L3配列を含む抗体、
9）SEQ ID NO:122のHVR-H1配列、SEQ ID NO:130のHVR-H2配列、SEQ ID NO:138のHVR-H3配列、SEQ ID NO:146のHVR-L1配列、SEQ ID NO:154のHVR-L2配列およびSEQ ID NO:162のHVR-L3配列を含む抗体、
10）SEQ ID NO:123のHVR-H1配列、SEQ ID NO:131のHVR-H2配列、SEQ ID NO:139のHVR-H3配列、SEQ ID NO:147のHVR-L1配列、SEQ ID NO:155のHVR-L2配列およびSEQ ID NO:163のHVR-L3配列を含む抗体、
11）SEQ ID NO:124のHVR-H1配列、SEQ ID NO:132のHVR-H2配列、SEQ ID NO:140のHVR-H3配列、SEQ ID NO:148のHVR-L1配列、SEQ ID NO:156のHVR-L2配列およびSEQ ID NO:164のHVR-L3配列を含む抗体、
12）SEQ ID NO:125のHVR-H1配列、SEQ ID NO:133のHVR-H2配列、SEQ ID NO:141のHVR-H3配列、SEQ ID NO:149のHVR-L1配列、SEQ ID NO:157のHVR-L2配列およびSEQ ID NO:165のHVR-L3配列を含む抗体、ならびに
13）SEQ ID NO:126のHVR-H1配列、SEQ ID NO:134のHVR-H2配列、SEQ ID NO:142のHVR-H3配列、SEQ ID NO:150のHVR-L1配列、SEQ ID NO:158のHVR-L2配列およびSEQ ID NO:166のHVR-L3配列を含む抗体、
からなる群より選択される抗体と競合する、抗体。
【請求項２】
C1qとC1r2s2複合体との間の相互作用を阻害する単離された抗体であって、RBCアッセイにおいて少なくとも70％のヒト血清補体に対する中和活性を有する、請求項1に記載の抗体。
【請求項３】
C1qとC1r2s2複合体との間の相互作用を阻害する単離された抗体であって、該抗体の抗原結合活性がpH 7.4よりもpH 5.8において低い、請求項1または2に記載の抗体。
【請求項４】
請求項1～3のいずれか一項記載の抗体および薬学的に許容される担体を含む、薬学的製剤。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
本発明は、抗補体成分抗体、例えば、抗C1s抗体および抗C1r抗体、ならびにそれらの使用方法に関する。
【背景技術】
【０００２】
背景
C1複合体は、古典経路カスケードの主要な開始因子として機能する大型のタンパク質複合体である。C1複合体は、モル比がそれぞれ1：2：2のC1q、C1r、およびC1sの3つの成分から構成される（非特許文献1）。古典経路は、抗体と結合した標的にC1複合体が結合すると開始される。6つの球状頭部を有するC1qは、Fc領域とのアビディティ型相互作

用によってC1複合体が抗体に結合するのを媒介する。標的に緊密に結合すると、C1複合体内のC1rは自己活性化し、酵素的に活性となる。活性化したC1rはその後、C1複合体内のプロ酵素C1sを切断して活性化させる（非特許文献2）。その後、活性化したC1sは、その基質である補体成分C2およびC4を切断し、それぞれC2a/C2bおよびC4a/C4bフラグメントにする。これにより、C3コンバターゼであるC4b2aの集合体が標的の表面上にあらわれ、C3を切断してC3bを形成させる。C3bはその後、C5を切断して、C5b、C6、C7、C8、およびC9の終末膜侵襲複合体の形成を開始させ、これが孔形成を通じて標的を溶解させる。

【０００３】

C1sおよびC1rの両タンパク質は、CUB1-EGF-CUB2-CCP1-CCP2-セリンプロテアーゼという同一のドメイン構成を有する（非特許文献3）。CUB1-EGF-CUB2ドメインは、C1r2s2四量体を形成するためのC1rとC1sの間の相互作用を媒介し（非特許文献4）、またC1r2s2とC1qの間の相互作用も媒介する（非特許文献5）。これに対して、C1rおよびC1sのCCP1-CCP2-セリンプロテアーゼドメインは、それらの各々の基質のタンパク質分解切断を担う（非特許文献6、非特許文献7）。C1r2s2四量体は、この四量体のCUB1-EGF-CUB2ドメイン内の6つの結合部位を通じて、C1qの6つのステム部と相互作用する（非特許文献5）。

【０００４】

適切に機能する補体系は宿主を病原体から防御するが、古典経路の異常調節または不適切な活性化は、様々な補体介在性の障害、例えば、非限定的に、自己免疫性溶血性貧血（AIHA）、ベーチェット病、水疱性類天疱瘡（BP）、免疫性血小板減少性紫斑病（ITP）等を引き起こす。したがって、古典経路の過剰なまたは制御されない活性化の阻害は、そのような障害を有する患者に臨床的利益を提供し得る。

【０００５】

C1sのベータドメインに結合する抗体であるHI532はC1r2s2とC1qの相互作用を阻害できることが報告された（非特許文献8）。しかし、この抗体は、ヒト血清の溶血活性を完全には中和することができず、血清をこの抗体と共に24時間インキュベートした後でさえも30%の活性が残存した。

【０００６】

抗体は、血漿中で安定性があり、それらの標的に対して高度に特異的であり、一般に良い薬物動態プロファイルを示すことから、非常に魅力的な医薬品である。しかし、それらの大きな分子サイズのために、治療用抗体の用量は通常、高い。標的が多量に存在する場合は、必要とされる抗体の治療用量はさらに高くなる。その結果、抗体の薬物動態、薬力学、および抗原結合特性を改善する方法は、治療用抗体に伴う用量および高い製造費を減少させる魅力的な方法である。

【０００７】

pH依存的に抗原に結合する抗体（以降、本明細書で「pH依存的抗体」または「pH依存的結合抗体」とも称される）は、単一の抗体分子による複数の抗原分子の中和を可能にすることが報告されている（非特許文献9、特許文献1）。pH依存的抗体は、血漿中の中性pH条件下でその抗原に強く結合するが、細胞のエンドソーム内の酸性pH条件下で抗原から解離する。抗原から解離すると、抗体はFcRn受容体により血漿中にリサイクルされ、解離した抗原は、細胞のリソソーム内で分解される。リサイクルされた抗体はその後、再び自由に抗原分子に結合してそれを中和し、このプロセスは抗体が血中にとどまる限り繰り返される。

【先行技術文献】

【特許文献】

【０００８】

【文献】WO2009/125825

【非特許文献】

【０００９】

【文献】Wang et. al. Mol Cell. 2016 Jul 7;63(1):135-45
Mortensen et. al. Proc Natl Acad Sci U S A. 2017 Jan 31;114(5):986-991
Gal et. al. Mol Immunol. 2009 Sep;46(14):2745-52
Almitairi et. al. Proc Natl Acad Sci U S A. 2018 Jan 23;115(4):768-773
Bally et. al. J Biol Chem. 2009 Jul 17;284(29):19340-8
Rossi et. al. 1998 J Biol Chem. 1998 Jan 9;273(2):1232-9
Lacroix et. al. J Biol Chem. 2001 Sep 28;276(39):36233-40
Tseng et. al. Mol Immunol. 1997 Jun;34(8-9):671-9
Igawa et. al. Nat Biotechnol. 2010 Nov;28(11):1203-7

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【００１０】

本発明は、抗補体成分抗体、例えば抗C1s抗体および抗C1r抗体、ならびにそれらの使用方法を提供する。

【課題を解決するための手段】

【００１１】

いくつかの態様において、C1qとC1r2s2複合体との間の相互作用を阻害する本発明の単離された抗体は、C1qrs複合体に結合してC1qrs複合体からのC1qの解離を促進させる解離促進機能（displacement function）を有する抗体である。

【００１２】

いくつかの態様において、C1qとC1r2s2複合体との間の相互作用を阻害する本発明の単離された抗体は、BIACORE（登録商標）チップ上のC1qrs複合体に結合してC1qrs複合体からのC1qの解離を促進させる抗体である。さらなる態様において、本発明の抗体は、BIACORE（登録商標）アッセイにおいて、十分な時間が経過した時に該抗体の存在下での共鳴単位（RU）の値が該抗体の非存在下での共鳴単位（RU）の値を下回る場合に、解離促進機能を有する抗体であると判定され得る。

【００１３】

いくつかの態様において、C1qとC1r2s2複合体との間の相互作用を阻害する本発明の単離された抗体は、「C1r2s2複合体およびC1qの捕捉量が、それぞれ200共鳴単位（RU）および200共鳴単位（RU）であり、アナライトとして500 nMの抗体を10マイクロリットル（μL）/分で注入する」という条件でのBIACORE（登録商標）アッセイにおいて、そのクロスオーバー時点が、抗体注入開始時点の後60秒以内、100秒以内、150秒以内、200秒以内、500秒以内、700秒以内、1000秒以内、1500秒以内、または2000秒以内である場合に、解離促進機能を有する抗体であると判定され得る。

【００１４】

いくつかの態様において、C1qとC1r2s2複合体との間の相互作用を阻害する本発明の単離された抗体は、「C1r2s2複合体およびC1qの捕捉量が、それぞれ200共鳴単位（RU）および200共鳴単位（RU）であり、アナライトとして500 nMの抗体を10μL/分で注入する」という条件でのBIACORE（登録商標）アッセイにおいて、抗体注入開始時点の後100秒以内、300秒以内、500秒以内、700秒以内、1000秒以内、1500秒以内、2000秒以内、3000秒以内、5000秒以内、7000秒以内、または10000秒以内に、C1qのほぼすべてがC1qrs複合体から解離する場合に、解離促進機能を有する抗体であると判定され得る。

【００１５】

いくつかの態様において、C1qとC1r2s2複合体との間の相互作用を阻害する本発明の単離された抗体は、RBCアッセイにおいて少なくとも70％のヒト血清補体に対する中和活性を有する抗体である。

【００１６】

いくつかの態様において、C1qとC1r2s2複合体との間の相互作用を阻害する本発明の単離された抗体は、C1sに特異的に結合する抗体またはC1rに特異的に結合する抗体であ

る。

【００１７】

いくつかの態様において、C1qとC1r2s2複合体との間の相互作用を阻害する本発明の単離された抗体は、C1sのCUB1-EGF-CUB2ドメイン内のエピトープに特異的に結合する抗体である。さらなる態様において、本発明の抗体は、該エピトープへの結合に関して、以下の1）～5）からなる群より選択される抗体と競合する：

1）SEQ ID NO:32のHVR-H1配列、SEQ ID NO:33のHVR-H2配列、SEQ ID NO:34のHVR-H3配列、SEQ ID NO:35のHVR-L1配列、SEQ ID NO:36のHVR-L2配列およびSEQ ID NO:37のHVR-L3配列を含む抗体、

2）SEQ ID NO:38のHVR-H1配列、SEQ ID NO:39のHVR-H2配列、SEQ ID NO:40のHVR-H3配列、SEQ ID NO:41のHVR-L1配列、SEQ ID NO:42のHVR-L2配列およびSEQ ID NO:43のHVR-L3配列を含む抗体、

3）SEQ ID NO:44のHVR-H1配列、SEQ ID NO:45のHVR-H2配列、SEQ ID NO:46のHVR-H3配列、SEQ ID NO:47のHVR-L1配列、SEQ ID NO:48のHVR-L2配列およびSEQ ID NO:49のHVR-L3配列を含む抗体、

4）SEQ ID NO:50のHVR-H1配列、SEQ ID NO:51のHVR-H2配列、SEQ ID NO:52のHVR-H3配列、SEQ ID NO:53のHVR-L1配列、SEQ ID NO:54のHVR-L2配列およびSEQ ID NO:55のHVR-L3配列を含む抗体、ならびに

5）SEQ ID NO:56のHVR-H1配列、SEQ ID NO:57のHVR-H2配列、SEQ ID NO:58のHVR-H3配列、SEQ ID NO:59のHVR-L1配列、SEQ ID NO:60のHVR-L2配列およびSEQ ID NO:61のHVR-L3配列を含む抗体。

【００１８】

いくつかの態様において、C1qとC1r2s2複合体との間の相互作用を阻害する本発明の単離された抗体は、C1rのCUB1-EGF-CUB2ドメイン内のエピトープに特異的に結合する抗体である。さらなる態様において、本発明の抗体は、該エピトープへの結合に関して、以下の6）～13）からなる群より選択される抗体と競合する：

6）SEQ ID NO:119のHVR-H1配列、SEQ ID NO:127のHVR-H2配列、SEQ ID NO:135のHVR-H3配列、SEQ ID NO:143のHVR-L1配列、SEQ ID NO:151のHVR-L2配列およびSEQ ID NO:159のHVR-L3配列を含む抗体、

7）SEQ ID NO:120のHVR-H1配列、SEQ ID NO:128のHVR-H2配列、SEQ ID NO:136のHVR-H3配列、SEQ ID NO:144のHVR-L1配列、SEQ ID NO:152のHVR-L2配列およびSEQ ID NO:160のHVR-L3配列を含む抗体、

8）SEQ ID NO:121のHVR-H1配列、SEQ ID NO:129のHVR-H2配列、SEQ ID NO:137のHVR-H3配列、SEQ ID NO:145のHVR-L1配列、SEQ ID NO:153のHVR-L2配列およびSEQ ID NO:161のHVR-L3配列を含む抗体、

9）SEQ ID NO:122のHVR-H1配列、SEQ ID NO:130のHVR-H2配列、SEQ ID NO:138のHVR-H3配列、SEQ ID NO:146のHVR-L1配列、SEQ ID NO:154のHVR-L2配列およびSEQ ID NO:162のHVR-L3配列を含む抗体、

10）SEQ ID NO:123のHVR-H1配列、SEQ ID NO:131のHVR-H2配列、SEQ ID NO:139のHVR-H3配列、SEQ ID NO:147のHVR-L1配列、SEQ ID NO:155のHVR-L2配列およびSEQ ID NO:163のHVR-L3配列を含む抗体、

11）SEQ ID NO:124のHVR-H1配列、SEQ ID NO:132のHVR-H2配列、SEQ ID NO:140のHVR-H3配列、SEQ ID NO:148のHVR-L1配列、SEQ ID NO:156のHVR-L2配列およびSEQ ID NO:164のHVR-L3配列を含む抗体、

12）SEQ ID NO:125のHVR-H1配列、SEQ ID NO:133のHVR-H2配列、SEQ ID NO:141のHVR-H3配列、SEQ ID NO:149のHVR-L1配列、SEQ ID NO:157のHVR-L2配列およびSEQ ID NO:165のHVR-L3配列を含む抗体、ならびに

13）SEQ ID NO:126のHVR-H1配列、SEQ ID NO:134のHVR-H2配列、SEQ ID NO:142のHVR-H3配列、SEQ ID NO:150のHVR-L1配列、SEQ ID NO:158のHVR-L2配列およびSEQ ID NO:166のHVR-L3配列を含む抗体。

【００１９】
いくつかの態様において、C1qとC1r2s2複合体との間の相互作用を阻害する本発明の単離された抗体は、イオン濃度に依存して変化する抗原結合活性を有する抗体である。いくつかの態様において、C1qとC1r2s2複合体との間の相互作用を阻害する本発明の単離された抗体は、イオン濃度に依存して変化するC1s結合活性を有する抗体である。いくつかの態様において、C1qとC1r2s2複合体との間の相互作用を阻害する本発明の単離された抗体は、イオン濃度に依存して変化するC1r結合活性を有する抗体である。
【００２０】
いくつかの態様において、C1qとC1r2s2複合体との間の相互作用を阻害する本発明の単離された抗体は、酸性pHよりも中性pHにおいて高いアフィニティで抗原に結合する抗体である。いくつかの態様において、C1qとC1r2s2複合体との間の相互作用を阻害する本発明の単離された抗体は、酸性pHよりも中性pHにおいて高いアフィニティでC1sに結合する抗体である。いくつかの態様において、C1qとC1r2s2複合体との間の相互作用を阻害する本発明の単離された抗体は、酸性pHよりも中性pHにおいて高いアフィニティでC1rに結合する抗体である。
【００２１】
いくつかの態様において、C1qとC1r2s2複合体との間の相互作用を阻害する本発明の単離された抗体は、低カルシウム濃度条件下よりも高カルシウム濃度条件下において高いアフィニティで抗原に結合する抗体である。いくつかの態様において、C1qとC1r2s2複合体との間の相互作用を阻害する本発明の単離された抗体は、低カルシウム濃度条件下よりも高カルシウム濃度条件下において高いアフィニティでC1sに結合する抗体である。いくつかの態様において、C1qとC1r2s2複合体との間の相互作用を阻害する本発明の単離された抗体は、低カルシウム濃度条件下よりも高カルシウム濃度条件下において高いアフィニティでC1rに結合する抗体である。
【００２２】
いくつかの態様において、C1qとC1r2s2複合体との間の相互作用を阻害する本発明の単離された抗体は、中性pHかつ高カルシウム濃度条件下において、酸性pHかつ低カルシウム濃度下よりも高いアフィニティで抗原に結合する抗体である。いくつかの態様において、C1qとC1r2s2複合体との間の相互作用を阻害する本発明の単離された抗体は、中性pHかつ高カルシウム濃度条件下において、酸性pHかつ低カルシウム濃度下よりも高いアフィニティでC1sに結合する抗体である。いくつかの態様において、C1qとC1r2s2複合体との間の相互作用を阻害する本発明の単離された抗体は、中性pHかつ高カルシウム濃度条件下において、酸性pHかつ低カルシウム濃度下よりも高いアフィニティでC1rに結合する抗体である。
【００２３】
いくつかの態様において、C1qとC1r2s2複合体との間の相互作用を阻害する本発明の単離された抗体について、中性pHおよび酸性pHの両方において高カルシウム濃度下で測定された場合、中性pHでのそのC1s結合活性のKD値に対する酸性pHでのそのC1s結合活性のKD値の比（KD(酸性pH)/KD(中性pH)）は2以上である。いくつかの態様において、C1qとC1r2s2複合体との間の相互作用を阻害する本発明の単離された抗体について、中性pHおよび酸性pHの両方において高カルシウム濃度下で測定された場合、中性pHでのそのC1r結合活性のKD値に対する酸性pHでのそのC1r結合活性のKD値の比（KD(酸性pH)/KD(中性pH)）は2以上である。
【００２４】
いくつかの態様において、C1qとC1r2s2複合体との間の相互作用を阻害する本発明の単離された抗体について、中性pHおよび酸性pHの両方において低カルシウム濃度下で測定された場合、中性pHでのそのC1s結合活性のKD値に対する酸性pHでのそのC1s結合活性のKD値の比（KD(酸性pH)/KD(中性pH)）は2以上であり、ここで該抗C1s抗体は二量体状態のC1sに結合する。いくつかの態様において、C1qとC1r2s2複合体との間の相互作用を阻害する本発明の単離された抗体について、中性pHおよび酸性pHの両方において低

カルシウム濃度下で測定された場合、中性pHでのそのC1r結合活性のKD値に対する酸性pHでのそのC1r結合活性のKD値の比（KD(酸性pH)/KD(中性pH)）は2以上であり、ここで該抗C1s抗体は二量体状態のC1rに結合する。

【００２５】

いくつかの態様において、C1qとC1r2s2複合体との間の相互作用を阻害する本発明の単離された抗体について、中性pHにおける高カルシウム濃度下および酸性pHにおける低カルシウム濃度下で測定された場合、中性pHでのそのC1s結合活性のKD値に対する酸性pHでのそのC1s結合活性のKD値の比（KD(酸性pH)/KD(中性pH)）は2以上である。いくつかの態様において、C1qとC1r2s2複合体との間の相互作用を阻害する本発明の単離された抗体について、中性pHにおける高カルシウム濃度下および酸性pHにおける低カルシウム濃度下で測定された場合、中性pHでのそのC1r結合活性のKD値に対する酸性pHでのそのC1r結合活性のKD値の比（KD(酸性pH)/KD(中性pH)）は2以上である。

【００２６】

いくつかの態様において、C1qとC1r2s2複合体との間の相互作用を阻害する本発明の抗C1s抗体は、以下のKabatナンバリングシステムでの位置：

重鎖：H26、H27、H28、H29、H30、H31、H32、H33、H34、H35、H50、H51、H52、H52a、H53、H54、H55、H57、H58、H59、H60、H61、H62、H63、H64、H65、H93、H94、H95、H96、H97、H98、H99、H100、H100a、H101およびH102；ならびに

軽鎖：L24、L25、L26、L27、L27a、L28、L29、L30、L31、L32、L33、L50、L51、L52、L53、L54、L55、L56、L91、L92、L93、L94、L95、L95a、L96およびL97

のうちの1つまたは複数にヒスチジン残基を含む。

【００２７】

いくつかの態様において、C1qとC1r2s2複合体との間の相互作用を阻害する本発明の抗C1r抗体は、以下のKabatナンバリングシステムでの位置：

重鎖：H26、H27、H28、H29、H30、H31、H32、H33、H34、H35、H50、H51、H52、H52a、H53、H54、H55、H57、H58、H59、H60、H61、H62、H63、H64、H65、H93、H94、H95、H96、H97、H98、H99、H100、H100a、H101およびH102；ならびに

軽鎖：L24、L25、L26、L27、L27a、L28、L29、L30、L31、L32、L33、L50、L51、L52、L53、L54、L55、L56、L91、L92、L93、L94、L95、L95a、L96およびL97

のうちの1つまたは複数にヒスチジン残基を含む。

【００２８】

いくつかの態様において、C1qとC1r2s2複合体との間の相互作用を阻害する本発明の抗C1s抗体は、以下のKabatナンバリングシステムでの位置：

重鎖：H26、H27、H28、H29、H30、H31、H32、H33、H34、H35、H50、H51、H52、H52a、H53、H54、H55、H57、H58、H59、H60、H61、H62、H63、H64、H65、H93、H94、H95、H96、H97、H98、H99、H100、H100a、H101およびH102；ならびに

軽鎖：L24、L25、L26、L27、L27a、L28、L29、L30、L31、L32、L33、L50、L51、L52、L53、L54、L55、L56、L91、L92、L93、L94、L95、L95a、L96およびL97

のうちの1つまたは複数において置換された少なくとも1つのヒスチジンを含む。

【００２９】

いくつかの態様において、C1qとC1r2s2複合体との間の相互作用を阻害する本発明の抗C1r抗体は、以下のKabatナンバリングシステムでの位置：

重鎖：H26、H27、H28、H29、H30、H31、H32、H33、H34、H35、H50、H51、H52、H52a、H53、H54、H55、H57、H58、H59、H60、H61、H62、H63、H64

、H65、H93、H94、H95、H96、H97、H98、H99、H100、H100a、H101およびH102；ならびに
軽鎖：L24、L25、L26、L27、L27a、L28、L29、L30、L31、L32、L33、L50、L51、L52、L53、L54、L55、L56、L91、L92、L93、L94、L95、L95a、L96およびL97
のうちの1つまたは複数において置換された少なくとも1つのヒスチジンを含む。
【００３０】
さらなる態様において、C1qとC1r2s2複合体との間の相互作用を阻害する本発明のpH依存性を有する抗C1s抗体は、中性pH条件下で、C1sへの結合に関して、以下の1）～5）からなる群より選択される抗体と競合する：
1）SEQ ID NO:32のHVR-H1配列、SEQ ID NO:33のHVR-H2配列、SEQ ID NO:34のHVR-H3配列、SEQ ID NO:35のHVR-L1配列、SEQ ID NO:36のHVR-L2配列およびSEQ ID NO:37のHVR-L3配列を含む抗体、
2）SEQ ID NO:38のHVR-H1配列、SEQ ID NO:39のHVR-H2配列、SEQ ID NO:40のHVR-H3配列、SEQ ID NO:41のHVR-L1配列、SEQ ID NO:42のHVR-L2配列およびSEQ ID NO:43のHVR-L3配列を含む抗体、
3）SEQ ID NO:44のHVR-H1配列、SEQ ID NO:45のHVR-H2配列、SEQ ID NO:46のHVR-H3配列、SEQ ID NO:47のHVR-L1配列、SEQ ID NO:48のHVR-L2配列およびSEQ ID NO:49のHVR-L3配列を含む抗体、
4）SEQ ID NO:50のHVR-H1配列、SEQ ID NO:51のHVR-H2配列、SEQ ID NO:52のHVR-H3配列、SEQ ID NO:53のHVR-L1配列、SEQ ID NO:54のHVR-L2配列およびSEQ ID NO:55のHVR-L3配列を含む抗体、ならびに
5）SEQ ID NO:56のHVR-H1配列、SEQ ID NO:57のHVR-H2配列、SEQ ID NO:58のHVR-H3配列、SEQ ID NO:59のHVR-L1配列、SEQ ID NO:60のHVR-L2配列およびSEQ ID NO:61のHVR-L3配列を含む抗体。
【００３１】
さらなる態様において、C1qとC1r2s2複合体との間の相互作用を阻害する本発明のpH依存性を有する抗C1r抗体は、中性pH条件下で、C1rへの結合に関して、以下の6）～13）からなる群より選択される抗体と競合する：
6）SEQ ID NO:119のHVR-H1配列、SEQ ID NO:127のHVR-H2配列、SEQ ID NO:135のHVR-H3配列、SEQ ID NO:143のHVR-L1配列、SEQ ID NO:151のHVR-L2配列およびSEQ ID NO:159のHVR-L3配列を含む抗体、
7）SEQ ID NO:120のHVR-H1配列、SEQ ID NO:128のHVR-H2配列、SEQ ID NO:136のHVR-H3配列、SEQ ID NO:144のHVR-L1配列、SEQ ID NO:152のHVR-L2配列およびSEQ ID NO:160のHVR-L3配列を含む抗体、
8）SEQ ID NO:121のHVR-H1配列、SEQ ID NO:129のHVR-H2配列、SEQ ID NO:137のHVR-H3配列、SEQ ID NO:145のHVR-L1配列、SEQ ID NO:153のHVR-L2配列およびSEQ ID NO:161のHVR-L3配列を含む抗体、
9）SEQ ID NO:122のHVR-H1配列、SEQ ID NO:130のHVR-H2配列、SEQ ID NO:138のHVR-H3配列、SEQ ID NO:146のHVR-L1配列、SEQ ID NO:154のHVR-L2配列およびSEQ ID NO:162のHVR-L3配列を含む抗体、
10）SEQ ID NO:123のHVR-H1配列、SEQ ID NO:131のHVR-H2配列、SEQ ID NO:139のHVR-H3配列、SEQ ID NO:147のHVR-L1配列、SEQ ID NO:155のHVR-L2配列およびSEQ ID NO:163のHVR-L3配列を含む抗体、
11）SEQ ID NO:124のHVR-H1配列、SEQ ID NO:132のHVR-H2配列、SEQ ID NO:140のHVR-H3配列、SEQ ID NO:148のHVR-L1配列、SEQ ID NO:156のHVR-L2配列およびSEQ ID NO:164のHVR-L3配列を含む抗体、
12）SEQ ID NO:125のHVR-H1配列、SEQ ID NO:133のHVR-H2配列、SEQ ID NO:141のHVR-H3配列、SEQ ID NO:149のHVR-L1配列、SEQ ID NO:157のHVR-L2配列およびSEQ ID NO:165のHVR-L3配列を含む抗体、ならびに

13）SEQ ID NO:126のHVR-H1配列、SEQ ID NO:134のHVR-H2配列、SEQ ID NO:142のHVR-H3配列、SEQ ID NO:150のHVR-L1配列、SEQ ID NO:158のHVR-L2配列およびSEQ ID NO:166のHVR-L3配列を含む抗体。

【００３２】

いくつかの態様において、本開示は、本明細書で「C1sのCUB1-EGF-CUB2ドメイン」とも呼ばれる、補体成分1s（C1s）のCUB1、EGFおよびCUB2からなるCUB1-EGF-CUB2ドメイン（相互作用ドメインまたはCUBドメインとも呼ばれる）を含む領域内のエピトープに特異的に結合する単離された抗C1s抗体を提供する。いくつかの態様において、この抗体は、C1sのCCP1-CCP2-SPドメイン（触媒ドメインまたはCCP-SPドメインとも呼ばれる）には結合しない。いくつかの態様において、本開示の単離された抗C1s抗体が結合するエピトープは、C1sのベータドメインに位置しないエピトープである。いくつかの態様において、本開示の単離された抗C1s抗体が結合するエピトープは、C1sのアルファドメインまたはC1sのガンマドメインに位置するエピトープである。いくつかの態様において、本開示の単離された抗C1s抗体が結合するエピトープは、線状エピトープである。いくつかの態様において、本開示の単離された抗C1s抗体が結合するエピトープは、補体C1sタンパク質のアミノ酸16～291番目、補体C1sタンパク質のアミノ酸16～172番目、補体C1sタンパク質のアミノ酸16～210番目、補体C1sタンパク質のアミノ酸16～111番目、補体C1sタンパク質のアミノ酸112～210番目、補体C1sタンパク質のアミノ酸131～172番目、または補体C1sタンパク質のアミノ酸16～130番目の範囲内のエピトープである。いくつかの態様において、C1sの上記エピトープは、ヒトC1sのエピトープ、または、好ましくはヒトC1sのエピトープかつカニクイザルC1sのエピトープである。

【００３３】

いくつかの態様において、本開示は、本明細書で「C1rのCUB1-EGF-CUB2ドメイン」とも呼ばれる、補体成分1r（C1r）のCUB1、EGFおよびCUB2からなるCUB1-EGF-CUB2ドメインを含む領域内のエピトープに特異的に結合する単離された抗C1r抗体を提供する。いくつかの態様において、この抗体は、C1rのCCP1-CCP2-SPドメイン（触媒ドメインとも呼ばれる）には結合しない。いくつかの例において、本開示の単離された抗C1r抗体が結合するエピトープは、線状エピトープまたは立体構造エピトープである。いくつかの態様において、C1rの上記エピトープは、ヒトC1rのエピトープ、または、好ましくはヒトC1rのエピトープかつカニクイザルC1rのエピトープである。

【００３４】

いくつかの態様において、本発明の単離された抗C1s抗体は、（a）SEQ ID NO:32、38、44、50または56のアミノ酸配列を含むHVR-H1、（b）SEQ ID NO:33、39、45、51または57のアミノ酸配列を含むHVR-H2、および（c）SEQ ID NO:34、40、46、52または58のアミノ酸配列を含むHVR-H3を含み、該抗体はヒト由来または霊長類由来のフレームワーク領域を含む。いくつかの態様において、本発明の単離された抗C1s抗体は、（a）SEQ ID NO:35、41、47、53または59のアミノ酸配列を含むHVR-L1、（b）SEQ ID NO:36、42、48、54または60のアミノ酸配列を含むHVR-L2、および（c）SEQ ID NO:37、43、49、55または61のアミノ酸配列を含むHVR-L3を含み、該抗体はヒト由来または霊長類由来のフレームワーク領域を含む。

【００３５】

いくつかの態様において、本発明の単離された抗C1r抗体は、（a）SEQ ID NO:119、120、121、122、123、124、125または126のアミノ酸配列を含むHVR-H1、（b）SEQ ID NO:127、128、129、130、131、132、133または134のアミノ酸配列を含むHVR-H2、および（c）SEQ ID NO:135、136、137、138、139、140、141または142のアミノ酸配列を含むHVR-H3を含み、該抗体はヒト由来または霊長類由来のフレームワーク領域を含む。いくつかの態様において、本発明の単離された抗C1r抗体は、（a）SEQ ID NO:143、144、145、146、147、148、149または150のアミノ酸配列を含むHVR-L1、（b）SEQ ID NO:151、152、153、154、155、156、157または158のアミノ酸配列を含むHVR-L2、および（c）SEQ ID NO:159、160、161、162、163、16

4、165または166のアミノ酸配列を含むHVR-L3を含み、該抗体はヒト由来または霊長類由来のフレームワーク領域を含む。

【００３６】

いくつかの態様において、本発明の抗C1s抗体は、（a）SEQ ID NO:19、20、21、23または24のアミノ酸配列に対して少なくとも95%の配列同一性を有するVH配列、（b）SEQ ID NO:26、27、28、30または31のアミノ酸配列に対して少なくとも95%の配列同一性を有するVL配列、または（c）（a）のVH配列および（b）のVL配列を含む。いくつかの態様において、本発明の抗C1s抗体は、SEQ ID NO:19、20、21、23または24のVH配列を含む。いくつかの態様において、本発明の抗C1s抗体は、SEQ ID NO:26、27、28、30または31のVL配列を含む。さらなる態様において、本発明の抗C1s抗体は、SEQ ID NO:19、20、21、23または24のVH配列およびSEQ ID NO:26、27、28、30または31のVL配列を含む。さらなる態様において、本発明の抗C1s抗体は、SEQ ID NO:19のVH配列およびSEQ ID NO:26のVL配列を含む。さらなる態様において、本発明の抗C1s抗体は、SEQ ID NO:20のVH配列およびSEQ ID NO:27のVL配列を含む。さらなる態様において、本発明の抗C1s抗体は、SEQ ID NO:21のVH配列およびSEQ ID NO:28のVL配列を含む。さらなる態様において、本発明の抗C1s抗体は、SEQ ID NO:23のVH配列およびSEQ ID NO:30のVL配列を含む。さらなる態様において、本発明の抗C1s抗体は、SEQ ID NO:24のVH配列およびSEQ ID NO:31のVL配列を含む。

【００３７】

いくつかの態様において、本発明の抗C1r抗体は、（a）SEQ ID NO:103、104、105、106、107、108、109または110のアミノ酸配列に対して少なくとも95%の配列同一性を有するVH配列、（b）SEQ ID NO:111、112、113、114、115、116、117または118のアミノ酸配列に対して少なくとも95%の配列同一性を有するVL配列、または（c）（a）のVH配列および（b）のVL配列を含む。いくつかの態様において、本発明の抗C1r抗体は、SEQ ID NO:103、104、105、106、107、108、109または110のVH配列を含む。いくつかの態様において、本発明の抗C1r抗体は、SEQ ID NO:111、112、113、114、115、116、117または118のVL配列を含む。さらなる態様において、本発明の抗C1r抗体は、SEQ ID NO:103、104、105、106、107、108、109または110のVH配列およびSEQ ID NO:111、112、113、114、115、116、117または118のVL配列を含む。さらなる態様において、本発明の抗C1r抗体は、SEQ ID NO:103のVH配列およびSEQ ID NO:111のVL配列を含む。さらなる態様において、本発明の抗C1r抗体は、SEQ ID NO:104のVH配列およびSEQ ID NO:112のVL配列を含む。さらなる態様において、本発明の抗C1r抗体は、SEQ ID NO:105のVH配列およびSEQ ID NO:113のVL配列を含む。さらなる態様において、本発明の抗C1r抗体は、SEQ ID NO:106のVH配列およびSEQ ID NO:114のVL配列を含む。さらなる態様において、本発明の抗C1r抗体は、SEQ ID NO:107のVH配列およびSEQ ID NO:115のVL配列を含む。さらなる態様において、本発明の抗C1r抗体は、SEQ ID NO:108のVH配列およびSEQ ID NO:116のVL配列を含む。さらなる態様において、本発明の抗C1r抗体は、SEQ ID NO:109のVH配列およびSEQ ID NO:117のVL配列を含む。さらなる態様において、本発明の抗C1r抗体は、SEQ ID NO:110のVH配列およびSEQ ID NO:118のVL配列を含む。

【００３８】

いくつかの態様において、C1qとC1r2s2複合体との間の相互作用を阻害する本発明の抗C1s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、C1qとC1r2s2複合体との間の相互作用を阻害する本発明の抗C1s抗体は、ヒト抗体、ヒト化抗体またはキメラ抗体である。さらなる態様において、C1qとC1r2s2複合体との間の相互作用を阻害する本発明の抗C1s抗体は、全長IgG1、IgG2、IgG3またはIgG4抗体である。さらなる態様において、C1qとC1r2s2複合体との間の相互作用を阻害する本発明の抗C1s抗体は、C1sに結合する抗体断片である。いくつかの特定の態様において、C1qとC1r2s2複合体との間の相互作用を阻害する本発明の抗C1s抗体は、ヒトIgG1またはヒト化IgG1である。

【００３９】

いくつかの態様において、C1qとC1r2s2複合体との間の相互作用を阻害する本発明の抗C1r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、C1qとC1r2s2複合体との間の相互作用を阻害する本発明の抗C1r抗体は、ヒト抗体、ヒト化抗体またはキメラ抗体である。さらなる態様において、C1qとC1r2s2複合体との間の相互作用を阻害する本発明の抗C1r抗体は、全長IgG1、IgG2、IgG3またはIgG4抗体である。さらなる態様において、C1qとC1r2s2複合体との間の相互作用を阻害する本発明の抗C1r抗体は、C1rに結合する抗体断片である。いくつかの特定の態様において、C1qとC1r2s2複合体との間の相互作用を阻害する本発明の抗C1r抗体は、ヒトIgG1またはヒト化IgG1である。

【００４０】

いくつかの態様において、C1qとC1r2s2複合体との間の相互作用を阻害する本発明の単離された抗体は、血漿中抗原濃度の低下を促進しかつ／または抗体の薬物動態を改善するように少なくとも1つのアミノ酸改変をFc領域内に有するFc領域を含む抗体である。

【００４１】

いくつかの態様において、C1qとC1r2s2複合体との間の相互作用を阻害する本発明の単離された抗体は、

a）活性型Fcγ受容体に対する結合活性が、天然型ヒトIgG1のFc領域の当該結合活性よりも強い、

b）抑制型Fcγ受容体に対する結合活性が、活性型Fcγ受容体に対するものよりも強い、および

c）中性pHにおけるFcRnに対する結合活性が、天然型ヒトIgG1のFc領域の当該結合活性よりも強い、

からなる群より選択される結合活性を有するヒトFc領域を有する。

【００４２】

いくつかの態様において、C1qとC1r2s2複合体との間の相互作用を阻害する本発明の単離された抗体は、少なくともヒトC1sに、または好ましくはカニクイザルC1sおよびヒトC1sの両方に結合する。いくつかの態様において、C1qとC1r2s2複合体との間の相互作用を阻害する本発明の単離された抗体は、少なくともヒトC1rに、または好ましくはカニクイザルC1rおよびヒトC1rの両方に結合する。

【００４３】

本発明はまた、本発明の抗C1s抗体をコードする単離された核酸を提供する。本発明はまた、本発明の抗C1r抗体をコードする単離された核酸を提供する。本発明はまた、本発明の核酸を含む宿主細胞を提供する。本発明はまた、抗体を製造する方法であって、抗体が産生されるように本発明の宿主細胞を培養する工程を含む方法を提供する。

【００４４】

本発明はまた、本発明の抗体および薬学的に許容される担体を含む、薬学的製剤を提供する。

【００４５】

本発明の抗C1s抗体は、医薬品として使用するためのものであり得る。本発明の抗C1s抗体は、補体介在性の疾患または障害を治療または予防するのに使用するためのものであり得る。本発明の抗C1s抗体は、血漿からのC1sのクリアランスを増強（または血漿からC1sを除去）するのに使用するためのものであり得る。本発明の抗C1s抗体は、血漿からのC1r2s2のクリアランスを増強（または血漿からC1r2s2を除去）するのに使用するためのものであり得る。本発明の抗C1s抗体は、血漿からのC1qのクリアランスを増強（または血漿からC1qを除去）せずに、血漿からのC1r2s2のクリアランスを増強（または血漿からC1r2s2を除去）するのに使用するためのものであり得る。いくつかの例において、この抗体は、古典的補体経路の成分を阻害し、いくつかの例において、古典的補体経路の成分はC1sである。

【００４６】

本発明の抗C1r抗体は、医薬品として使用するためのものであり得る。本発明の抗C1r抗体は、補体介在性の疾患または障害を治療または予防するのに使用するためのものであ

り得る。本発明の抗C1r抗体は、血漿からのC1rのクリアランスを増強（または血漿からC1rを除去）するのに使用するためのものであり得る。本発明の抗C1r抗体は、血漿からのC1r2s2のクリアランスを増強（または血漿からC1r2s2を除去）するのに使用するためのものであり得る。本発明の抗C1r抗体は、血漿からのC1qのクリアランスを増強（または血漿からC1qを除去）せずに、血漿からのC1r2s2のクリアランスを増強（または血漿からC1r2s2を除去）するのに使用するためのものであり得る。いくつかの例において、この抗体は、古典的補体経路の成分を阻害し、いくつかの例において、古典的補体経路の成分はC1rである。

【００４７】

本発明の抗C1s抗体は、医薬品の製造において使用され得る。いくつかの態様において、医薬品は、補体介在性の疾患または障害を治療または予防するためのものである。いくつかの態様において、医薬品は、血漿からのC1sのクリアランスを増強（または血漿からC1sを除去）するためのものである。いくつかの態様において、医薬品は、血漿からのC1r2s2のクリアランスを増強（または血漿からC1r2s2を除去）するためのものである。いくつかの態様において、医薬品は、血漿からのC1qのクリアランスを増強（または血漿からC1qを除去）せずに、血漿からのC1r2s2のクリアランスを増強（または血漿からC1r2s2を除去）するためのものである。この文脈において、血漿からのC1qのクリアランスの増強のレベルは、0（ゼロ）である必要はない。すなわち、血漿からのC1qのクリアランスの増強のレベルは、ゼロであり得、またはゼロではなくゼロ付近であり得、または有意でないもしくは当業者によって技術的に無視される程度に非常に小さいものであり得る。いくつかの例において、医薬品は、古典的補体経路の成分を阻害し、いくつかの例において、古典的補体経路の成分はC1sである。

【００４８】

C1s／C1qクリアランス（CL）の増強は、例えば以下のようにして、測定することができる。

マウス血漿中のヒトC1sおよびC1qの総濃度を、LC/ESI-MS/MSによって測定する。検量線用標準試料は、ヒトC1s濃度が0.477、0.954、1.91、3.82、7.64、15.3、30.5マイクログラム（μg）/mL、ヒトC1q濃度が0.977、1.95、3.91、7.81、15.6、31.3および62.5μg/mLとなるように、それぞれ規定量のヒトC1sおよびC1qをマウス血漿中で混合および希釈することによって調製する。2μLの検量線用標準試料および血漿サンプルを、25μLの、50 mmol/L炭酸水素アンモニウム中6.8 mol/L尿素、9.1 mmol/Lジチオトレイトール、および0.4μg/mLリゾチーム（ニワトリ卵白）と混合し、56℃で45分間インキュベートする。その後、2μLの500 mmol/Lヨードアセトアミドを添加し、37℃で30分間、暗所でインキュベートする。次に、160μLの、50 mmol/L炭酸水素アンモニウム中0.5μg/mLトリプシン（Promega）を添加し、37℃で一晩インキュベートする。最後に、トリプシンを不活性化させるために、5μLの10%トリフルオロ酢酸を添加する。40μLの消化サンプルを、LC/ESI-MS/MSによる分析に供する。LC/ESI-MS/MSは、2D I-class UPLC（Waters）を備えたXevo TQ-Sトリプル四重極型質量分析装置（Waters）を用いて行う。ヒトC1s特異的ペプチドLLEVPEGRおよびヒトC1q特異的ペプチドIAFSATRを、Selected Reaction Monitoring（SRM）によりモニタリングする。SRMトランジションは、ヒトC1sの場合は[M+2H]2+（m/z 456.8）～y6イオン（m/z 686.3）、ヒトC1qの場合は[M+2H]2+（m/z 383.2）～y5イオン（m/z 581.3）とする。濃度に対してピーク面積をプロットし、線形回帰（重みづけ：1/x2）により、検量線を作成する。分析用ソフトウェアMasslynxバージョン4.1（Waters）を用いて、この検量線からマウス血漿中のヒトC1sおよびC1q濃度を算出する。

マウスにおける抗C1s抗体投与後の総hC1sおよびhC1qの薬物動態は、以下のようにして評価される。

hC1s、hC1q、および抗C1s抗体のin vivo薬物動態は、抗原単独（hC1q、組み換えC1r2s2、hC1qとrC1r2s2の混合物）または抗C1s抗体との組み合わせをマウス（CB17/Icr-Prkdcscid/CrlCrlj: Charles River Japan）に投与した後に評価する。3匹のマウスを

各投与グループに割り当てる。
最初に、hC1q溶液（0.84 mg/mL）、rC1r2s2（0.47 mg/mL）、またはhC1qおよびrC1r2s2を含む混合物の溶液（それぞれ、0.84および0.47 mg/mL）を、10 mL/kgの用量でマウスに静脈内注射する。抗原溶液の投与後、抗C1s抗体溶液（2.5 mg/mL）を、同じ個体に同じ方法で直ちに投与する。
C1qおよびrC1r2s2の用量設定は、投与直後にヒト血漿中での生理学的濃度となるように設計する。試験中、両抗原に対して過剰な濃度となるように抗C1s抗体の用量を調節し、そのため血中では、ほぼすべてのhC1sが結合形態になると推定される。
投与から5分後、30分後、2時間後、7時間後、3日後、7日後、14日後、21日後、および28日後に血液を取得する。これらの血液を直ちに遠心分離し、血漿サンプルを分離する。各サンプル取得時点で、hC1sおよびhC1qの血漿中濃度を、LC/ESI-MS/MSによって測定する。hC1sおよびhC1qのPKパラメータを、ノンコンパートメント解析によって算出する（Phoenix WinNonlinバージョン8.0、Certara）。
（i）C1qおよびFcγ受容体の両方への結合性を低減する変異を含むFcを有する抗体、または（ii）Fcγ受容体への結合性を維持しつつC1qへの結合性を低減する変異を含むFcを有する抗体をマウスに投与する。例えば、本発明において、「SG136」のFcは、C1qおよびFcγ受容体の両方への結合性を低減する変異を含み、「SG1148」のFcは、Fcγ受容体への結合性を維持しつつC1qへの結合性を低減する変異を含む。
試験抗体（例えば、CCP1-CCP2-SP結合体またはCUB1-EGF-CUB2結合体）について、上記のマウスPK試験を行い、hC1qおよびhC1sのPKパラメータを計算する。その後、結合体のC1s CL比（SG1148/SG136）または結合体のC1q CL比（SG1148/SG136）が評価され得る。いくつかの態様において、本発明の抗体のC1q CL比は、1.8以下、1.7以下、1.6以下、1.5以下、1.4以下、1.3以下、1.2以下、1.1以下、1.0以下である。
本発明の抗C1r抗体は、医薬品の製造において使用され得る。いくつかの態様において、医薬品は、補体介在性の疾患または障害を治療または予防するためのものである。いくつかの態様において、医薬品は、血漿からのC1rのクリアランスを増強（または血漿からC1rを除去）するためのものである。いくつかの態様において、医薬品は、血漿からのC1r2s2のクリアランスを増強（または血漿からC1r2s2を除去）するためのものである。いくつかの態様において、医薬品は、血漿からのC1qのクリアランスを増強（または血漿からC1qを除去）せずに、血漿からのC1r2s2のクリアランスを増強（または血漿からC1r2s2を除去）するためのものである。いくつかの例において、医薬品は、古典的補体経路の成分を阻害し、いくつかの例において、古典的補体経路の成分はC1rである。

【００４９】

本発明はまた、補体介在性の疾患または障害を有する個体を治療または予防する方法を提供する。いくつかの態様において、この方法は、有効量の本発明の抗C1s抗体を個体に投与する工程を含む。本発明はまた、個体において血漿からのC1sのクリアランスを増強（または血漿からC1sを除去）する方法を提供する。いくつかの態様において、この方法は、血漿からのC1sのクリアランスを増強（または血漿からC1sを除去）するのに有効な量の本発明の抗C1s抗体を個体に投与する工程を含む。本発明はまた、個体において血漿からのC1r2s2のクリアランスを増強（または血漿からC1r2s2を除去）する方法を提供する。本発明はまた、個体において血漿からのC1qのクリアランスを増強（または血漿からC1qを除去）せずに血漿からのC1r2s2のクリアランスを増強（または血漿からC1r2s2を除去）する方法を提供する。いくつかの態様において、この方法は、血漿からのC1r2s2のクリアランスを増強（または血漿からC1r2s2を除去）するのに有効な量の本発明の抗C1s抗体を個体に投与する工程を含む。いくつかの態様において、この方法は、血漿からのC1qのクリアランスを増強（または血漿からC1qを除去）せずに血漿からのC1r2s2のクリアランスを増強（または血漿からC1r2s2を除去）するのに有効な量の本発明の抗C1s抗体を個体に投与する工程を含む。いくつかの例において、この抗体は、古典的補体経路の成分を阻害し、いくつかの例において、古典的補体経路の成分はC1sである。

【００５０】

本発明はまた、補体介在性の疾患または障害を有する個体を治療または予防する方法を提供する。いくつかの態様において、この方法は、有効量の本発明の抗C1r抗体を個体に投与する工程を含む。本発明はまた、個体において血漿からのC1rのクリアランスを増強（または血漿からC1rを除去）する方法を提供する。いくつかの態様において、この方法は、血漿からのC1rのクリアランスを増強（または血漿からC1rを除去）するのに有効な量の本発明の抗C1r抗体を個体に投与する工程を含む。本発明はまた、個体において血漿からのC1r2s2のクリアランスを増強（または血漿からC1r2s2を除去）する方法を提供する。本発明はまた、個体において血漿からのC1qのクリアランスを増強（または血漿からC1qを除去）せずに血漿からのC1r2s2のクリアランスを増強（または血漿からC1r2s2を除去）する方法を提供する。いくつかの態様において、この方法は、血漿からのC1r2s2のクリアランスを増強（または血漿からC1r2s2を除去）するのに有効な量の本発明の抗C1r抗体を個体に投与する工程を含む。いくつかの態様において、この方法は、血漿からのC1qのクリアランスを増強（または血漿からC1qを除去）せずに血漿からのC1r2s2のクリアランスを増強（または血漿からC1r2s2を除去）するのに有効な量の本発明の抗C1r抗体を個体に投与する工程を含む。いくつかの例において、この抗体は、古典的補体経路の成分を阻害し、いくつかの例において、古典的補体経路の成分はC1rである。

【００５１】

より具体的には、本発明は以下を提供する：

[1] C1qとC1r2s2複合体との間の相互作用を阻害する単離された抗体であって、該抗体がC1qrs複合体に結合してC1qrs複合体からのC1qの解離を促進させる解離促進機能を有する、抗体。

[2] 前記抗体が、BIACOREチップ上のC1qrs複合体に結合してC1qrs複合体からのC1qの解離を促進させ、BIACOREアッセイにおいて、十分な時間が経過した時に該抗体の存在下での共鳴単位（RU）の値が、該抗体の非存在下での共鳴単位（RU）の値を下回る、[1]の抗体。

[3] C1r2s2複合体およびC1qの捕捉量が、それぞれ200共鳴単位（RU）および200共鳴単位（RU）であり、アナライトとして500 nMの前記抗体が10μL/分で注入されるという条件でのBIACOREアッセイにおいて、BIACOREアッセイにおけるクロスオーバー時点が、抗体注入開始時点の後60秒以内、100秒以内、150秒以内、200秒以内、500秒以内、700秒以内、または1000秒以内である、[2]の抗体。

[4] C1r2s2複合体およびC1qの捕捉量が、それぞれ200共鳴単位（RU）および200共鳴単位（RU）であり、アナライトとして500 nMの前記抗体が10μL/分で注入されるという条件でのBIACOREアッセイにおいて、抗体注入開始時点の後100秒以内、300秒以内、500秒以内、700秒以内、1000秒以内、1500秒以内、または2000秒以内にC1qのほぼすべてがC1qrs複合体から解離する、[2]の抗体。

[5] C1qとC1r2s2複合体との間の相互作用を阻害する単離された抗体であって、RBCアッセイにおいて少なくとも70％のヒト血清補体に対する中和活性を有する、抗体。

[6] C1sに特異的に結合する抗体またはC1rに特異的に結合する抗体である、[1]～[5]のいずれかの抗体。

[7] C1qとC1r2s2複合体との間の相互作用を阻害する単離された抗体であって、C1sのCUB1-EGF-CUB2ドメイン内のエピトープに特異的に結合し、かつ該エピトープへの結合に関して、以下の1）～5）：

1）SEQ ID NO:32のHVR-H1配列、SEQ ID NO:33のHVR-H2配列、SEQ ID NO:34のHVR-H3配列、SEQ ID NO:35のHVR-L1配列、SEQ ID NO:36のHVR-L2配列およびSEQ ID NO:37のHVR-L3配列を含む抗体、

2）SEQ ID NO:38のHVR-H1配列、SEQ ID NO:39のHVR-H2配列、SEQ ID NO:40のHVR-H3配列、SEQ ID NO:41のHVR-L1配列、SEQ ID NO:42のHVR-L2配列およびSEQ ID NO:43のHVR-L3配列を含む抗体、

3）SEQ ID NO:44のHVR-H1配列、SEQ ID NO:45のHVR-H2配列、SEQ ID NO:46のHVR-H3配列、SEQ ID NO:47のHVR-L1配列、SEQ ID NO:48のHVR-L2配列およびSE

Q ID NO:49のHVR-L3配列を含む抗体、
4）SEQ ID NO:50のHVR-H1配列、SEQ ID NO:51のHVR-H2配列、SEQ ID NO:52のHVR-H3配列、SEQ ID NO:53のHVR-L1配列、SEQ ID NO:54のHVR-L2配列およびSEQ ID NO:55のHVR-L3配列を含む抗体、ならびに
5）SEQ ID NO:56のHVR-H1配列、SEQ ID NO:57のHVR-H2配列、SEQ ID NO:58のHVR-H3配列、SEQ ID NO:59のHVR-L1配列、SEQ ID NO:60のHVR-L2配列およびSEQ ID NO:61のHVR-L3配列を含む抗体、
からなる群より選択される抗体と競合するか、または
C1rのCUB1-EGF-CUB2ドメイン内のエピトープに特異的に結合し、かつ該エピトープへの結合に関して、以下の6）～13）：
6）SEQ ID NO:119のHVR-H1配列、SEQ ID NO:127のHVR-H2配列、SEQ ID NO:135のHVR-H3配列、SEQ ID NO:143のHVR-L1配列、SEQ ID NO:151のHVR-L2配列およびSEQ ID NO:159のHVR-L3配列を含む抗体、
7）SEQ ID NO:120のHVR-H1配列、SEQ ID NO:128のHVR-H2配列、SEQ ID NO:136のHVR-H3配列、SEQ ID NO:144のHVR-L1配列、SEQ ID NO:152のHVR-L2配列およびSEQ ID NO:160のHVR-L3配列を含む抗体、
8）SEQ ID NO:121のHVR-H1配列、SEQ ID NO:129のHVR-H2配列、SEQ ID NO:137のHVR-H3配列、SEQ ID NO:145のHVR-L1配列、SEQ ID NO:153のHVR-L2配列およびSEQ ID NO:161のHVR-L3配列を含む抗体、
9）SEQ ID NO:122のHVR-H1配列、SEQ ID NO:130のHVR-H2配列、SEQ ID NO:138のHVR-H3配列、SEQ ID NO:146のHVR-L1配列、SEQ ID NO:154のHVR-L2配列およびSEQ ID NO:162のHVR-L3配列を含む抗体、
10）SEQ ID NO:123のHVR-H1配列、SEQ ID NO:131のHVR-H2配列、SEQ ID NO:139のHVR-H3配列、SEQ ID NO:147のHVR-L1配列、SEQ ID NO:155のHVR-L2配列およびSEQ ID NO:163のHVR-L3配列を含む抗体、
11）SEQ ID NO:124のHVR-H1配列、SEQ ID NO:132のHVR-H2配列、SEQ ID NO:140のHVR-H3配列、SEQ ID NO:148のHVR-L1配列、SEQ ID NO:156のHVR-L2配列およびSEQ ID NO:164のHVR-L3配列を含む抗体、
12）SEQ ID NO:125のHVR-H1配列、SEQ ID NO:133のHVR-H2配列、SEQ ID NO:141のHVR-H3配列、SEQ ID NO:149のHVR-L1配列、SEQ ID NO:157のHVR-L2配列およびSEQ ID NO:165のHVR-L3配列を含む抗体、ならびに
13）SEQ ID NO:126のHVR-H1配列、SEQ ID NO:134のHVR-H2配列、SEQ ID NO:142のHVR-H3配列、SEQ ID NO:150のHVR-L1配列、SEQ ID NO:158のHVR-L2配列およびSEQ ID NO:166のHVR-L3配列を含む抗体、
からなる群より選択される抗体と競合する、抗体。
[8] C1qとC1r2s2複合体との間の相互作用を阻害する単離された抗体であって、該抗体の抗原結合活性がpH 7.4よりもpH 5.8において低い、抗体。
[9] 前記抗体が、C1sまたはC1rのCUB1-EGF-CUB2ドメイン内のエピトープに特異的に結合し、該抗体の抗原結合活性がpH 7.4よりもpH 5.8において低い、[1]～[8]のいずれかの抗体。
[10] 以下の（i）または（ii）に記載されるように、中性pHよりも酸性pHにおいて低いアフィニティでC1sまたはC1rに結合する、[9]の抗体：
（i）中性pHおよび酸性pHの両方において高カルシウム濃度下で測定された場合、中性pHでのC1s結合活性のKD値に対する酸性pHでのC1s結合活性のKD値の比（KD(酸性pH)/KD(中性pH)）が2以上である、
（ii）中性pHにおける高カルシウム濃度下および酸性pHにおける低カルシウム濃度下で測定された場合、中性pHでのC1s結合活性のKD値に対する酸性pHでのC1s結合活性のKD値の比（KD(酸性pH)/KD(中性pH)）が2以上である。
[11] 血漿中抗原濃度の低下を促進しかつ／または前記抗体の薬物動態を改善するように少なくとも1つのアミノ酸改変を有するFc領域を含む、[8]～[10]のいずれかの抗体。

[12] 前記Fc領域が
a）活性型Fcγ受容体に対する結合活性が、天然型ヒトIgG1のFc領域の該結合活性よりも強い、
b）抑制型Fcγ受容体に対する結合活性が、活性型Fcγ受容体に対する結合活性よりも強い、および
c）中性pHにおけるFcRnに対する結合活性が、天然型ヒトIgG1のFc領域の該結合活性よりも強い
からなる群より選択される結合活性を有するヒトFc領域である、[11]の抗体。
[13] カニクイザルC1sおよびヒトC1sの両方に、またはカニクイザルC1rおよびヒトC1rの両方に結合する、[1]～[12]のいずれかの抗体。
[14] [1]～[13]のいずれかの抗体および薬学的に許容される担体を含む、薬学的製剤。
[15] 補体介在性の疾患または障害を有する個体を治療する方法であって、[1]～[13]のいずれかの抗体を個体に有効量投与する工程を含む、方法。
【図面の簡単な説明】
【００５２】
【図１Ａ】図1Aは、C1sタンパク質のCUB1-EGF-CUB2ドメインに対する抗体の結合特異性を示している。組み換えヒトC1s CCP1-CCP2-SP-Hisタンパク質に対する抗C1s抗体のBIACORE（登録商標）センサーグラム。
【図１Ｂ】図1Bは、C1sタンパク質のCUB1-EGF-CUB2ドメインに対する抗体の結合特異性を示している。天然型プロ酵素ヒトC1sタンパク質に対する抗C1s抗体のBIACORE（登録商標）センサーグラム。
【図２Ａ】図2Aは、抗体により媒介される、BIACORE（登録商標）センサー表面上に固定化された組み換えヒトC1r2s2 Flag/His四量体からの天然型ヒトC1qの解離促進を示している。抗体による天然型ヒトC1qの解離促進は、3つのセンサーグラムの重ね書きによって示されている。センサーグラム1（短点線）は、センサー表面へのC1qrsの安定な捕捉を示している。センサーグラム2（長点線）は、C1qrsへの抗体の結合およびC1r2s2からのC1qの解離促進を示している。センサーグラム3（実線）は、C1qの非存在下で抗体のみがC1r2s2に結合するときのベースラインを示している。これらのセンサーグラムの比較のために、図2Aにおいて時間0におけるRU値がノーマライズ（すなわち、同一になるよう設定）されている。
【図２Ｂ】図2Bは、抗体により媒介される、BIACORE（登録商標）センサー表面上に固定化された組み換えヒトC1r2s2 Flag/His四量体からの天然型ヒトC1qの解離促進を示している。抗体による天然型ヒトC1qの解離促進は、3つのセンサーグラムの重ね書きによって示されている。センサーグラム1（短点線）は、センサー表面へのC1qrsの安定な捕捉を示している。センサーグラム2（長点線）は、C1qrsへの抗体の結合およびC1r2s2からのC1qの解離促進を示している。センサーグラム3（実線）は、C1qの非存在下で抗体のみがC1r2s2に結合するときのベースラインを示している。これらのセンサーグラムの比較のために、図2Bにおいて時間0におけるRU値がノーマライズ（すなわち、同一になるよう設定）されている。
【図２Ｃ】図2Cは、抗体により媒介される、BIACORE（登録商標）センサー表面上に固定化された組み換えヒトC1r2s2 Flag/His四量体からの天然型ヒトC1qの解離促進を示している。抗体による天然型ヒトC1qの解離促進は、3つのセンサーグラムの重ね書きによって示されている。センサーグラム1（短点線）は、センサー表面へのC1qrsの安定な捕捉を示している。センサーグラム2（長点線）は、C1qrsへの抗体の結合およびC1r2s2からのC1qの解離促進を示している。これらのセンサーグラムの比較のために、図2CにおいてAb注入時のRU値がノーマライズ（すなわち、同一になるよう設定）されている。
【図２Ｄ】図2Dは、抗体により媒介される、BIACORE（登録商標）センサー表面上に固定化された組み換えヒトC1r2s2 Flag/His四量体からの天然型ヒトC1qの解離促進を示している。抗体による天然型ヒトC1qの解離促進は、3つのセンサーグラムの重ね書きによって示されている。センサーグラム1（短点線）は、センサー表面へのC1qrsの安定な捕

捉を示している。センサーグラム2（長点線）は、C1qrsへの抗体の結合およびC1r2s2からのC1qの解離促進を示している。これらのセンサーグラムの比較のために、図2DにおいてAb注入時のRU値がノーマライズ（すなわち、同一になるよう設定）されている。
【図３】図3は、抗体により媒介される、BIACORE（登録商標）センサー表面上に固定化されたビオチン化天然型ヒトC1qからの組み換えヒトC1r2s2 Flag/His四量体の解離促進を示している。固定化された天然型ヒトC1qに結合するように組み換えヒトC1r2s2 Flag/His四量体を流し、続いてC1r2s2の解離速度をモニタリングするために緩衝液のみ（実線）を流すか、またはC1r2s2を解離させるために抗体（点線）を流すかのいずれかを行った。
【図４】図4は、抗体により媒介される、組み換えヒトC1r2s2 Flag/His四量体への天然型ヒトC1q結合のブロッキングを示している。C1qブロッキング機能を有する抗体は、C1r2s2への結合に関してC1qと競合した。
【図５】図5は、ヒト血清補体活性の中和を示している。
【図６】図6は、C1sのCUB1-EGF-CUB2ドメインに結合する抗体の競合エピトープビニングの結果を示している。
【図７】図7は、マウスにおける抗C1s抗体の投与後のヒトC1sおよびヒトC1qの薬物動態を示している。
【図８】図8は、抗C1s抗体によるヒト血清補体活性の時間依存的中和を示している。
【図９】図9は、還元型または非還元型ウェスタンブロット分析における天然型ヒトプロ酵素C1sへの抗体結合を示している。
【図１０】図10は、還元型ウェスタンブロットにおける切断型C1sタンパク質への抗体結合を示している。
【図１１Ａ】図11Aは、C1rタンパク質のCUB1-EGF-CUB2ドメインに対する抗体の結合特異性を示している。組み換えヒトC1r CCP1-CCP2-SP-FLAGタンパク質に対する抗C1r抗体のBIACORE（登録商標）センサーグラム。
【図１１Ｂ】図11Bは、C1rタンパク質のCUB1-EGF-CUB2ドメインに対する抗体の結合特異性を示している。天然型ヒトC1r酵素に対する抗C1r抗体のBIACORE（登録商標）センサーグラム。
【図１２Ａ】図12Aは、抗体により媒介される、BIACORE（登録商標）センサー表面上に捕捉された組み換えヒトC1r2s2 Flag/His四量体からの天然型ヒトC1qの解離促進を示している。抗体による天然型ヒトC1qの解離促進は、3つのセンサーグラムの重ね合わせによって示されている。センサーグラム1（短点線）は、センサー表面へのC1qrsの安定な捕捉を示している。センサーグラム2（長点線）は、C1qrsへの抗体の結合およびC1r2s2からのC1qの解離促進を示している。センサーグラム3（実線）は、C1qの非存在下で抗体のみがC1r2s2に結合するときのベースラインを示している。これらのセンサーグラムの比較のために、図12Aにおいて時間0におけるRU値がノーマライズ（すなわち、同一になるよう設定）されている。
【図１２Ｂ】図12Bは、抗体により媒介される、BIACORE（登録商標）センサー表面上に捕捉された組み換えヒトC1r2s2 Flag/His四量体からの天然型ヒトC1qの解離促進を示している。抗体による天然型ヒトC1qの解離促進は、3つのセンサーグラムの重ね合わせによって示されている。センサーグラム1（短点線）は、センサー表面へのC1qrsの安定な捕捉を示している。センサーグラム2（長点線）は、C1qrsへの抗体の結合およびC1r2s2からのC1qの解離促進を示している。センサーグラム3（実線）は、C1qの非存在下で抗体のみがC1r2s2に結合するときのベースラインを示している。これらのセンサーグラムの比較のために、図12Bにおいて時間0におけるRU値がノーマライズ（すなわち、同一になるよう設定）されている。
【図１２Ｃ】図12Cは、抗体により媒介される、BIACORE（登録商標）センサー表面上に捕捉された組み換えヒトC1r2s2 Flag/His四量体からの天然型ヒトC1qの解離促進を示している。抗体による天然型ヒトC1qの解離促進は、2つのセンサーグラムの重ね合わせによって示されている。センサーグラム1（実線）は、センサー表面へのC1qrsの安定な捕

捉を示している。センサーグラム2（点線）は、C1qrsへの抗体の結合およびC1r2s2からのC1qの解離促進を示している。これらのセンサーグラムの比較のために、図12CにおいてAb注入時のRU値がノーマライズ（すなわち、同一になるよう設定）されている。
【図１２Ｄ】図12Dは、抗体により媒介される、BIACORE（登録商標）センサー表面上に捕捉された組み換えヒトC1r2s2 Flag/His四量体からの天然型ヒトC1qの解離促進を示している。抗体による天然型ヒトC1qの解離促進は、2つのセンサーグラムの重ね合わせによって示されている。センサーグラム1（実線）は、センサー表面へのC1qrsの安定な捕捉を示している。センサーグラム2（点線）は、C1qrsへの抗体の結合およびC1r2s2からのC1qの解離促進を示している。これらのセンサーグラムの比較のために、図12DにおいてAb注入時のRU値がノーマライズ（すなわち、同一になるよう設定）されている。
【図１３】図13は、ヒト血清補体活性の中和を示している。
【発明を実施するための形態】
【００５３】
本明細書に記載または引用される手法および手順は、概して充分に理解されており、例えば、Sambrook et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual 3d edition (2001) Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y.；Current Protocols in Molecular Biology (F.M. Ausubel, et al. eds., (2003))；the series Methods in Enzymology (Academic Press, Inc.): PCR 2: A Practical Approach (M.J. MacPherson, B.D. Hames and G.R. Taylor eds. (1995)), Harlow and Lane, eds. (1988) Antibodies, A Laboratory Manual, and Animal Cell Culture (R.I. Freshney, ed. (1987))；Oligonucleotide Synthesis (M.J. Gait, ed., 1984)；Methods in Molecular Biology, Humana Press; Cell Biology: A Laboratory Notebook (J.E. Cellis, ed., 1998) Academic Press; Animal Cell Culture (R.I. Freshney), ed., 1987)；Introduction to Cell and Tissue Culture (J. P. Mather and P.E. Roberts, 1998) Plenum Press; Cell and Tissue Culture: Laboratory Procedures (A. Doyle, J.B. Griffiths, and D.G. Newell, eds., 1993-8) J. Wiley and Sons; Handbook of Experimental Immunology (D.M. Weir and C.C. Blackwell, eds.)；Gene Transfer Vectors for Mammalian Cells (J.M. Miller and M.P. Calos, eds., 1987)；PCR: The Polymerase Chain Reaction, (Mullis et al., eds., 1994)；Current Protocols in Immunology (J.E. Coligan et al., eds., 1991)；Short Protocols in Molecular Biology (Wiley and Sons, 1999)；Immunobiology (C.A. Janeway and P. Travers, 1997)；Antibodies (P. Finch, 1997)；Antibodies: A Practical Approach (D. Catty., ed., IRL Press, 1988-1989)；Monoclonal Antibodies: A Practical Approach (P. Shepherd and C. Dean, eds., Oxford University Press, 2000)；Using Antibodies: A Laboratory Manual (E. Harlow and D. Lane (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1999)；The Antibodies (M. Zanetti and J. D. Capra, eds., Harwood Academic Publishers, 1995)；およびCancer: Principles and Practice of Oncology (V.T. DeVita et al., eds., J.B. Lippincott Company, 1993)に記載された広範に利用されている技法などの従来の技法を用いて、当業者により一般的に使用される。
【００５４】
Ｉ．定義
別途定義しない限り、本明細書で使用される技術用語および科学用語は、本発明が属する技術分野の当業者によって一般的に理解されるのと同じ意味を有する。Singleton et al., Dictionary of Microbiology and Molecular Biology 2nd ed., J. Wiley & Sons (New York, N.Y. 1994)、およびMarch, Advanced Organic Chemistry Reactions, Mechanisms and Structure 4th ed., John Wiley & Sons (New York, N.Y. 1992)は、本出願において使用される用語の多くに対する一般的指針を当業者に提供する。特許出願および刊行物を含む、本明細書に引用される全ての参考文献は、その全体が参照により本明細書に組み入れられる。

【００５５】
本明細書を解釈する目的のために、以下の定義が適用され、該当する場合はいつでも、単数形で使用された用語は複数形をも含み、その逆もまた同様である。本明細書で使用される用語は、特定の態様を説明することのみを目的としており、限定を意図したものではないことが、理解されるべきである。下記の定義のいずれかが、参照により本明細書に組み入れられた任意の文書と矛盾する場合には、下記の定義が優先するものとする。
【００５６】
本明細書の趣旨での「アクセプターヒトフレームワーク」は、下で定義する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に「由来する」アクセプターヒトフレームワークは、それらの同じアミノ酸配列を含んでもよいし、またはアミノ酸配列の変更を含んでいてもよい。いくつかの態様において、アミノ酸の変更の数は、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。いくつかの態様において、VLアクセプターヒトフレームワークは、VLヒト免疫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。
【００５７】
「アフィニティ」は、分子（例えば、抗体）の結合部位1個と、分子の結合パートナー（例えば、抗原）との間の、非共有結合的な相互作用の合計の強度のことをいう。別段示さない限り、本明細書で用いられる「結合アフィニティ」は、ある結合対のメンバー（例えば、抗体と抗原）の間の１：１相互作用を反映する、固有の結合アフィニティのことをいう。分子Xのそのパートナーに対するアフィニティは、一般的に、解離定数（KdまたはKD）により表すことができる。アフィニティは、本明細書に記載のものを含む、当該技術分野において知られた通常の方法によって測定され得る。結合アフィニティを測定するための個々の具体的な実例となるおよび例示的な態様については、下で述べる。「アフィニティ」、「結合アフィニティ」、「結合能」、および「結合活性」は、相互に交換可能に用いられ得る。用語「結合活性」は、ある分子（例えば、抗体）の単一または複数の結合部位とその結合パートナー（例えば、抗原）との間の、非共有結合的な相互作用の合計の強度のことをいう。本明細書において、結合活性は、結合対のメンバー（例えば、抗体と抗原）間の1：1の相互作用を反映する活性に厳密に限定されるものではない。結合対のメンバーが一価結合および多価結合の両方の様式で相互に結合し得る場合、結合活性は、これらの結合の合計の強度である。そのパートナーに対する分子Xの結合活性は、通常、解離定数（KD）により表され得る。あるいは、結合速度および解離速度（KonおよびKoff）が、結合の評価に使用され得る。結合活性は、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方法によって測定され得る。結合アフィニティを測定するための具体的な実例となるおよび例示的な態様については、下で述べる。
【００５８】
「アフィニティ成熟」抗体は、改変を備えていない親抗体と比較して、1つまたは複数の超可変領域（hypervariable region: HVR）中に抗体の抗原に対するアフィニティの改善をもたらす1つまたは複数の改変を伴う、抗体のことをいう。
【００５９】
用語「抗C1s抗体」または「C1sに結合する抗体」は、充分なアフィニティでC1sと結合することのできる抗体であって、その結果その抗体がC1sを標的化したときに診断剤および/または治療剤として有用であるような、抗体のことをいう。一態様において、無関係な非C1sタンパク質への抗C1s抗体の結合の程度は、例えば、放射免疫測定法（radioimmunoassay: RIA）により測定したとき、抗体のC1sへの結合の約10％未満である。特定の態様において、C1sに結合する抗体は、1マイクロモル濃度（μM）以下、100nM以下、10nM以下、1nM以下、0.1nM以下、0.01nM以下、または0.001nM以下（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）の解離定数（Kd）を有する

。特定の態様において、抗C1s抗体は、異なる種からのC1s間で保存されているC1sのエピトープに結合する。

【００６０】

用語「抗C1r抗体」または「C1rに結合する抗体」は、充分なアフィニティでC1rと結合することのできる抗体であって、その結果その抗体がC1rを標的化したときに診断剤および/または治療剤として有用であるような、抗体のことをいう。一態様において、無関係な非C1rタンパク質への抗C1r抗体の結合の程度は、例えば、放射免疫測定法（radioimmunoassay: RIA）により測定したとき、抗体のC1rへの結合の約10％未満である。特定の態様において、C1rに結合する抗体は、1マイクロモル濃度（μM）以下、100nM以下、10nM以下、1nM以下、0.1nM以下、0.01nM以下、または0.001nM以下（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）の解離定数（Kd）を有する。特定の態様において、抗C1r抗体は、異なる種からのC1r間で保存されているC1rのエピトープに結合する。

【００６１】

本明細書で用語「抗体」は、最も広い意味で使用され、所望の抗原結合活性を示す限りは、これらに限定されるものではないが、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）および抗体断片を含む、種々の抗体構造を包含する。

【００６２】

「抗体断片」は、完全抗体が結合する抗原に結合する当該完全抗体の一部分を含む、当該完全抗体以外の分子のことをいう。抗体断片の例は、これらに限定されるものではないが、Fv、Fab、Fab'、Fab'-SH、$F(ab')_2$；ダイアボディ；線状抗体；単鎖抗体分子（例えば、scFv）；および、抗体断片から形成された多重特異性抗体を含む。

【００６３】

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参照抗体が自身の抗原への結合を50％以上、阻止する抗体のことをいい、かつ逆にいえば、参照抗体は、競合アッセイにおいて前述の抗体が自身の抗原への結合を50％以上、阻止する。例示的な競合アッセイが、本明細書で提供される。

【００６４】

用語「キメラ」抗体は、重鎖および/または軽鎖の一部分が特定の供給源または種に由来する一方で、重鎖および/または軽鎖の残りの部分が異なった供給源または種に由来する抗体のことをいう。

【００６５】

抗体の「クラス」は、抗体の重鎖に備わる定常ドメインまたは定常領域のタイプのことをいう。抗体には5つの主要なクラスがある：IgA、IgD、IgE、IgG、およびIgMである。そして、このうちいくつかはさらにサブクラス（アイソタイプ）に分けられてもよい。例えば、IgG_1、IgG_2、IgG_3、IgG_4、IgA_1、およびIgA_2である。異なるクラスの免疫グロブリンに対応する重鎖定常ドメインを、それぞれ、α、δ、ε、γ、およびμと呼ぶ。

【００６６】

本明細書でいう用語「細胞傷害剤」は、細胞の機能を阻害するまたは妨げる、および/または細胞の死または破壊の原因となる物質のことをいう。細胞傷害剤は、これらに限定されるものではないが、放射性同位体（例えば、^{211}At、^{131}I、^{125}I、^{90}Y、^{186}Re、^{188}Re、^{153}Sm、^{212}Bi、^{32}P、^{212}Pb、およびLuの放射性同位体）；化学療法剤または化学療法薬（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類（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、クロラムブシル、ダウノルビシン、または他のインターカレート剤）；増殖阻害剤；核酸分解酵素などの酵素およびその断片；抗生物質；例えば、低分子毒素または細菌、真菌、植物、または動物起源の酵素的に活性な毒素（その断片および/または変異体を含む）などの、毒素；および、以下に開示される、種々の抗腫瘍剤または抗がん剤を含む。

【００６７】

「エフェクター機能」は、抗体のFc領域に起因する、抗体のアイソタイプによって異なる生物活性のことをいう。抗体のエフェクター機能の例には次のものが含まれる：C1q結合および補体依存性細胞傷害（complement dependent cytotoxicity:CDC）；Fc受容体結合；抗体依存性細胞介在性細胞傷害（antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity: ADCC）；貪食作用；細胞表面受容体（例えば、B細胞受容体）の下方制御；および、B細胞活性化。

【００６８】

ある剤（例えば、薬学的製剤）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有効である、必要な用量におけるおよび必要な期間にわたっての、量のことをいう。

【００６９】

用語「エピトープ」は、抗体によって結合され得る任意の決定基を含む。エピトープは、抗原を標的とする抗体によって結合される該抗原の領域であり、抗体に直接接触する特定のアミノ酸を含む。エピトープ決定基は、アミノ酸、糖側鎖、ホスホリル基またはスルホニル基などの化学的に活性な表面分子群を含むことができ、かつ特異的な三次元構造特性および/または特定の電荷特性を備えることができる。一般的に、特定の標的抗原に特異的な抗体は、タンパク質および/または巨大分子の複雑な混合物中でその標的抗原上のエピトープを優先的に認識する。

【００７０】

本明細書で用語「Fc領域」は、少なくとも定常領域の一部分を含む免疫グロブリン重鎖のC末端領域を定義するために用いられる。この用語は、天然型配列Fc領域および変異体Fc領域を含む。一態様において、ヒトIgG重鎖Fc領域はCys226から、またはPro230から、重鎖のカルボキシル末端まで延びる。ただし、Fc領域のC末端のリジン(Lys447)またはグリシン-リジン（残基446-447）は、存在していてもしていなくてもよい。本明細書では別段特定しない限り、Fc領域または定常領域中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 に記載の、EUナンバリングシステム（EUインデックスとも呼ばれる）にしたがう。

【００７１】

「フレームワーク」または「FR」は、超可変領域 (HVR) 残基以外の、可変ドメイン残基のことをいう。可変ドメインのFRは、通常4つのFRドメイン：FR1、FR2、FR3、およびFR4からなる。それに応じて、HVRおよびFRの配列は、通常次の順序でVH（またはVL）に現れる：FR1-H1(L1)-FR2-H2(L2)-FR3-H3(L3)-FR4。

【００７２】

用語「全長抗体」、「完全抗体」、および「全部抗体」は、本明細書では相互に交換可能に用いられ、天然型抗体構造に実質的に類似した構造を有する、または本明細書で定義するFc領域を含む重鎖を有する抗体のことをいう。

【００７３】

用語「宿主細胞」、「宿主細胞株」、および「宿主細胞培養物」は、相互に交換可能に用いられ、外来核酸を導入された細胞（そのような細胞の子孫を含む）のことをいう。宿主細胞は「形質転換体」および「形質転換細胞」を含み、これには初代の形質転換細胞および継代数によらずその細胞に由来する子孫を含む。子孫は、親細胞と核酸の内容において完全に同一でなくてもよく、変異を含んでいてもよい。オリジナルの形質転換細胞がスクリーニングされたまたは選択された際に用いられたものと同じ機能または生物活性を有する変異体子孫も、本明細書では含まれる。

【００７４】

「ヒト抗体」は、ヒトもしくはヒト細胞によって産生された抗体またはヒト抗体レパートリーもしくは他のヒト抗体コード配列を用いる非ヒト供給源に由来する抗体のアミノ酸配列に対応するアミノ酸配列を備える抗体である。このヒト抗体の定義は、非ヒトの抗原結合残基を含むヒト化抗体を、明確に除外するものである。

【００７５】
「ヒトコンセンサスフレームワーク」は、ヒト免疫グロブリンVLまたはVHフレームワーク配列の選択群において最も共通して生じるアミノ酸残基を示すフレームワークである。通常、ヒト免疫グロブリン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である。通常、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におけるサブグループである。一態様において、VLについて、サブグループは上記のKabatらによるサブグループκIである。一態様において、VHについて、サブグループは上記のKabatらによるサブグループIIIである。
【００７６】
「ヒト化」抗体は、非ヒトHVRからのアミノ酸残基およびヒトFRからのアミノ酸残基を含む、キメラ抗体のことをいう。ある態様では、ヒト化抗体は、少なくとも1つ、典型的には2つの可変ドメインの実質的にすべてを含み、当該可変領域においては、すべてのもしくは実質的にすべてのHVR（例えばCDR）は非ヒト抗体のものに対応し、かつ、すべてのもしくは実質的にすべてのFRはヒト抗体のものに対応する。ヒト化抗体は、任意で、ヒト抗体に由来する抗体定常領域の少なくとも一部分を含んでもよい。抗体（例えば、非ヒト抗体）の「ヒト化された形態」は、ヒト化を経た抗体のことをいう。
【００７７】
本明細書で用いられる用語「超可変領域」または「HVR」は、配列において超可変であり（「相補性決定領域」または「CDR」(complementarity determining region)）、および/または構造的に定まったループ（「超可変ループ」）を形成し、および/または抗原接触残基（「抗原接触」）を含む、抗体の可変ドメインの各領域のことをいう。通常、抗体は6つのHVRを含む：VHに3つ（H1、H2、H3）、およびVLに3つ（L1、L2、L3）である。本明細書での例示的なHVRは、以下のものを含む：
(a) アミノ酸残基26-32 (L1)、50-52 (L2)、91-96 (L3)、26-32 (H1)、53-55 (H2)、および96-101 (H3)のところで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)、 および95-102 (H3)のところで生じる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) のところで生じる抗原接触 (MacCallum et al. J. Mol. Biol. 262: 732-745 (1996))；ならびに、
(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)、および94-102 (H3)を含む、(a)、(b)、および/または(c)の組合せ。
別段示さない限り、HVR残基および可変ドメイン中の他の残基（例えば、FR残基）は、本明細書では上記のKabatらにしたがって番号付けされる。
【００７８】
「イムノコンジュゲート」は、1つまたは複数の異種の分子にコンジュゲートされた抗体である（異種の分子は、これに限定されるものではないが、細胞傷害剤を含む）。
【００７９】
「個体」または「被験体」は哺乳動物である。哺乳動物は、これらに限定されるものではないが、飼育動物（例えば、ウシ、ヒツジ、ネコ、イヌ、ウマ）、霊長類（例えば、ヒト、およびサルなどの非ヒト霊長類）、ウサギ、ならびに、げっ歯類（例えば、マウスおよびラット）を含む。特定の態様では、個体または被験体は、ヒトである。
【００８０】
「単離された」抗体は、そのもともとの環境の成分から分離されたものである。いくつかの態様において、抗体は、例えば、電気泳動（例えば、SDS-PAGE、等電点分離法 (iso

electric focusing: IEF)、キャピラリー電気泳動）またはクロマトグラフ（例えば、イオン交換または逆相HPLC）で測定して、95%または99%を超える純度まで精製される。抗体の純度の評価のための方法の総説として、例えば、Flatman et al., J. Chromatogr. B 848:79-87 (2007) を参照のこと。

【００８１】

「単離された」核酸は、そのもともとの環境の成分から分離された核酸分子のことをいう。単離された核酸は、その核酸分子を通常含む細胞の中に含まれた核酸分子を含むが、その核酸分子は染色体外に存在しているかまたは本来の染色体上の位置とは異なる染色体上の位置に存在している。

【００８２】

「抗C1s抗体をコードする単離された核酸」または「抗C1r抗体をコードする単離された核酸」は、抗体の重鎖および軽鎖（またはその断片）をコードする1つまたは複数の核酸分子のことをいい、1つのベクターまたは別々のベクターに乗っている核酸分子、および、宿主細胞中の1つまたは複数の位置に存在している核酸分子を含む。

【００８３】

本明細書でいう用語「モノクローナル抗体」は、実質的に均一な抗体の集団から得られる抗体のことをいう。すなわち、その集団を構成する個々の抗体は、生じ得る変異抗体（例えば、自然に生じる変異を含む変異抗体、またはモノクローナル抗体調製物の製造中に発生する変異抗体。そのような変異体は通常若干量存在している。）を除いて、同一でありおよび/または同じエピトープに結合する。異なる決定基（エピトープ）に対する異なる抗体を典型的に含むポリクローナル抗体調製物とは対照的に、モノクローナル抗体調製物の各モノクローナル抗体は、抗原上の単一の決定基に対するものである。したがって、修飾語「モノクローナル」は、実質的に均一な抗体の集団から得られるものである、という抗体の特徴を示し、何らかの特定の方法による抗体の製造を求めるものと解釈されるべきではない。例えば、本発明にしたがって用いられるモノクローナル抗体は、これらに限定されるものではないが、ハイブリドーマ法、組換えDNA法、ファージディスプレイ法、ヒト免疫グロブリン遺伝子座の全部または一部を含んだトランスジェニック動物を利用する方法を含む、様々な手法によって作成されてよく、モノクローナル抗体を作製するためのそのような方法および他の例示的な方法は、本明細書に記載されている。

【００８４】

「裸抗体」は、異種の部分（例えば、細胞傷害部分）または放射性標識にコンジュゲートされていない抗体のことをいう。裸抗体は、薬学的製剤中に存在していてもよい。

【００８５】

「天然型抗体」は、天然に生じる様々な構造を伴う免疫グロブリン分子のことをいう。例えば、天然型IgG抗体は、ジスルフィド結合している2つの同一の軽鎖と2つの同一の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末端に向かって、各重鎖は、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) を有し、それに3つの定常ドメイン（CH1、CH2、およびCH3）が続く。同様に、N末端からC末端に向かって、各軽鎖は、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) を有し、それに定常軽鎖 (CL) ドメインが続く。抗体の軽鎖は、その定常ドメインのアミノ酸配列に基づいて、κおよびλと呼ばれる、2つのタイプの1つに帰属させられてよい。

【００８６】

用語「添付文書」は、治療用品の商用パッケージに通常含まれ、そのような治療用品の使用に関する、適応症、用法、用量、投与方法、併用療法、禁忌、および/または警告についての情報を含む使用説明書のことをいうために用いられる。

【００８７】

参照ポリペプチド配列に対する「パーセント (%) アミノ酸配列同一性」は、最大のパーセント配列同一性を得るように配列を整列させてかつ必要ならギャップを導入した後の、かつ、いかなる保存的置換も配列同一性の一部と考えないとしたときの、参照ポリペプチ

ド配列中のアミノ酸残基と同一である候補配列中のアミノ酸残基の、百分率比として定義される。パーセントアミノ酸配列同一性を決める目的のアラインメントは、当該技術分野における技術の範囲内にある種々の方法、例えば、BLAST、BLAST-2、ALIGN、Megalign (DNASTAR) ソフトウェア、またはGENETYX (登録商標) (Genetyx Co., Ltd.) などの、公に入手可能なコンピュータソフトウェアを使用することにより達成することができる。当業者は、比較される配列の全長にわたって最大のアラインメントを達成するために必要な任意のアルゴリズムを含む、配列のアラインメントをとるための適切なパラメーターを決定することができる。

【００８８】

ALIGN-2配列比較コンピュータプログラムは、ジェネンテック社の著作であり、そのソースコードは米国著作権庁 (U.S. Copyright Office, Wasington D.C., 20559) に使用者用書類とともに提出され、米国著作権登録番号TXU510087として登録されている。ALIGN-2プログラムは、ジェネンテック社 (Genentech, Inc., South San Francisco, California) から公に入手可能であるし、ソースコードからコンパイルしてもよい。ALIGN-2プログラムは、Digital UNIX V4.0Dを含むUNIXオペレーティングシステム上での使用のためにコンパイルされる。すべての配列比較パラメーターは、ALIGN-2プログラムによって設定され、変動しない。アミノ酸配列比較にALIGN-2が用いられる状況では、所与のアミノ酸配列Aの、所与のアミノ酸配列Bへの、またはそれとの、またはそれに対する％アミノ酸配列同一性（あるいは、所与のアミノ酸配列Bへの、またはそれとの、またはそれに対する、ある％アミノ酸配列同一性を有するまたは含む所与のアミノ酸配列A、ということもできる）は、次のように計算される：

分率X/Yの100倍

ここで、Xは配列アラインメントプログラムALIGN-2によって、当該プログラムのAおよびBのアラインメントにおいて同一である一致としてスコアされたアミノ酸残基の数であり、YはB中のアミノ酸残基の全数である。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、AのBへの％アミノ酸配列同一性は、BのAへの％アミノ酸配列同一性と等しくないことが、理解されるであろう。別段特に明示しない限り、本明細書で用いられるすべての％アミノ酸配列同一性値は、直前の段落で述べたとおりALIGN-2コンピュータプログラムを用いて得られるものである。

【００８９】

用語「薬学的製剤」は、その中に含まれた有効成分の生物活性が効果を発揮し得るような形態にある調製物であって、かつ製剤が投与される被験体に許容できない程度に毒性のある追加の要素を含んでいない、調製物のことをいう。

【００９０】

「薬学的に許容される担体」は、被験体に対して無毒な、薬学的製剤中の有効成分以外の成分のことをいう。薬学的に許容される担体は、これらに限定されるものではないが、緩衝液、賦形剤、安定化剤、または保存剤を含む。

【００９１】

本明細書で用いられる語句「特異的に結合する」は、抗体が、バックグラウンド結合（すなわち、非特異的結合）を含むが有意な結合（すなわち、特異的結合）を含まない結合レベルで関心対象ではない抗原に結合する、活性または特徴のことをいう。言い換えると、「特異的に結合する」は、抗体が、バックグラウンド結合（すなわち、非特異的結合）に加えてまたはそれに代えて有意な結合（すなわち、特異的結合）を含む結合レベルで関心対象の抗原に結合する、活性または特徴のことをいう。特異性は、本明細書で言及されているまたは当技術分野で公知の任意の方法によって測定され得る。上記の非特異的結合またはバックグラウンド結合のレベルは、ゼロであり得、またはゼロではなくゼロ付近であり得、または当業者によって技術的に無視される程度に非常に小さいものであり得る。例えば、当業者が適当な結合アッセイにおいて抗体と関心対象ではない抗原との間の結合に関して有意な（または相対的に強い）シグナルを検出または観察できない場合、その抗体が関心対象ではない抗原に「特異的に結合しない」と言うことができる。逆に、当業者

が適当な結合アッセイにおいて抗体と関心対象の抗原の間の結合に関して有意な（または相対的に強い）シグナルを検出または観察できる場合、その抗体が関心対象の抗原に「特異的に結合する」と言うことができる。

【００９２】

本明細書でいう用語「C1s」は、別段示さない限り、霊長類（例えば、ヒト）およびげっ歯類（例えば、マウスおよびラット）などの哺乳動物を含む、任意の脊椎動物供給源からの任意の天然型C1sのことをいう。この用語は、「全長」のプロセシングを受けていないC1sも、細胞中でのプロセシングの結果生じるいかなる形態のC1sも包含する。この用語はまた、自然に生じるC1sの変異体、例えば、スプライス変異体や対立遺伝子変異体も包含する。例示的なヒトC1sのアミノ酸配列を、SEQ ID NO:1に示す。例示的なカニクイザルおよびラットC1sのアミノ酸配列を、それぞれSEQ ID NO:3および2に示す。

本明細書でいう用語「C1r」は、別段示さない限り、霊長類（例えば、ヒト）およびげっ歯類（例えば、マウスおよびラット）などの哺乳動物を含む、任意の脊椎動物供給源からの任意の天然型C1rのことをいう。この用語は、「全長」のプロセシングを受けていないC1rも、細胞中でのプロセシングの結果生じるいかなる形態のC1rも包含する。この用語はまた、自然に生じるC1rの変異体、例えば、スプライス変異体や対立遺伝子変異体も包含する。例示的なヒトC1rのアミノ酸配列を、SEQ ID NO:4に示す。例示的なカニクイザルおよびラットC1rのアミノ酸配列を、それぞれSEQ ID NO:5および6に示す。

【００９３】

本明細書で用いられる「治療」（および、その文法上の派生語、例えば「治療する」、「治療すること」など）は、治療される個体の自然経過を改変することを企図した臨床的介入を意味し、予防のためにも、臨床的病態の経過の間にも実施され得る。治療の望ましい効果は、これらに限定されるものではないが、疾患の発生または再発の防止、症状の軽減、疾患による任意の直接的または間接的な病理的影響の減弱、転移の防止、疾患の進行速度の低減、疾患状態の回復または緩和、および寛解または改善された予後を含む。いくつかの態様において、本発明の抗体は、疾患の発症を遅らせる、または疾患の進行を遅くするために用いられる。

【００９４】

用語「可変領域」または「可変ドメイン」は、抗体を抗原へと結合させることに関与する、抗体の重鎖または軽鎖のドメインのことをいう。天然型抗体の重鎖および軽鎖の可変ドメイン（それぞれVHおよびVL）は、通常、各ドメインが4つの保存されたフレームワーク領域（FR）および3つの超可変領域（HVR）を含む、類似の構造を有する。（例えば、Kindt et al. Kuby Immunology, 6th ed., W.H. Freeman and Co., page 91 (2007) 参照。）1つのVHまたはVLドメインで、抗原結合特異性を与えるに充分であろう。さらに、ある特定の抗原に結合する抗体は、当該抗原に結合する抗体からのVHまたはVLドメインを使ってそれぞれVLまたはVHドメインの相補的ライブラリーをスクリーニングして、単離されてもよい。例えばPortolano et al., J. Immunol. 150:880-887 (1993)；Clarkson et al., Nature 352:624-628 (1991) 参照。

【００９５】

本明細書で用いられる用語「ベクター」は、それが連結されたもう1つの核酸を増やすことができる、核酸分子のことをいう。この用語は、自己複製核酸構造としてのベクター、および、それが導入された宿主細胞のゲノム中に組み入れられるベクターを含む。あるベクターは、自身が動作的に連結された核酸の、発現をもたらすことができる。そのようなベクターは、本明細書では「発現ベクター」とも称される。

【００９６】

II. 組成物および方法

一局面において、本発明は一部には、C1qとC1r2s2複合体との間の相互作用を阻害する抗体およびその使用に基づく。特定の態様において、C1sに結合する抗体が提供される。特定の態様において、C1rに結合する抗体が提供される。本発明の抗体は、例えば補体介在性の疾患または障害の予防または治療において有用である。

【００９７】
A. 例示的な抗補体成分抗体
一局面において、本発明は、C1qとC1r2s2複合体との間の相互作用を阻害する単離された抗体を提供する。一局面において、本発明は、C1qrs複合体に結合してC1qrs複合体からのC1qの解離を促進させる解離促進機能を有する単離された抗体を提供する。一局面において、本発明は、C1sに結合する単離された抗体を提供する。一局面において、本発明は、その結合活性がイオン濃度に依存して変化する、C1sに結合する単離された抗体を提供する。特定の態様において、抗C1s抗体の結合活性は、pH、すなわち水素イオン（プロトン）濃度に依存して変化する。特定の態様において、抗C1s抗体の結合活性は、カルシウム濃度に依存して変化する。特定の態様において、抗C1s抗体の結合活性は、pHおよびカルシウム濃度の両方に依存して変化する。別の局面において、本発明は、C1rに結合する単離された抗体を提供する。一局面において、本発明は、その結合活性がイオン濃度に依存して変化する、C1rに結合する単離された抗体を提供する。特定の態様において、抗C1r抗体の結合活性は、pH、すなわち水素イオン（プロトン）濃度に依存して変化する。特定の態様において、抗C1r抗体の結合活性は、カルシウム濃度に依存して変化する。特定の態様において、抗C1r抗体の結合活性は、pHおよびカルシウム濃度の両方に依存して変化する。
【００９８】
項目「発明を実施するための形態」を通じて、「C1s」という用語は、抗C1s抗体に特有の配列ならびにC1sタンパク質に特有の配列およびドメインに関連する記載を除いて、「C1r」で置き換えられ得る。
【００９９】
そのような抗体は、患者における用量および投与頻度を減らすことができ、結果としてその総用量を減らすことができるため、医薬品として特に優れていると予想される。抗C1s抗体は、血漿から（C1sへの結合を通じて）C1r2s2を除去するのみであり、血漿からC1qを除去しないため、C1qrs複合体に結合してこれを血漿から除去する抗体と比較して優れた安全性プロファイルを有すると予想される。その結果、C1q欠乏に関連する副作用が回避され得る。加えて、C1qの高速解離促進能を有する抗体は、補体活性のより速い中和を示すと予想され、これは、治療効果のより速い発生につながり得る。
【０１００】
（BIACORE（登録商標）／解離促進のコンセプト）
一局面において、C1qとC1r2s2複合体との間の相互作用を阻害する本発明の単離された抗体は、表面プラズモン共鳴アッセイ用のチップ（例えばBIACORE（登録商標）チップ）上のC1qrs複合体に結合してC1qrs複合体からのC1qの解離を促進させる抗体である。いくつかの局面において、上記のC1qrs複合体に結合してC1qrs複合体からのC1qの解離を促進させる機能は、本明細書において「解離促進機能／活性」または「C1q解離促進機能／活性」と呼ばれる。この機能／活性は、表面プラズモン共鳴アッセイ、例えば本明細書に記載されるBIACORE（登録商標）アッセイを用いて定性的にまたは定量的に適切に評価され得る。さらなる局面において、本発明の抗体は、表面プラズモン共鳴アッセイ、例えばBIACORE（登録商標）アッセイにおいて、十分な時間が経過した時にその抗体の存在下での共鳴単位（RU）の値がその抗体の非存在下での共鳴単位（RU）の値を下回る場合に、解離促進機能を有する抗体であると判定され得る。そのようなアッセイから得られるセンサーグラムにおいて、C1qの存在下かつ抗体の非存在下での曲線がC1qおよび抗体の存在下での曲線と交差する「クロスオーバー時点」が特定され得る（詳細については実施例を参照のこと）。厳密に言うと、ノイズ、または前者の曲線と交差するときの後者の曲線の振動が原因で、一つのセンサーグラムにおいてさえも複数のクロスオーバー時点が観察され得る。そのような例において、複数のクロスオーバー時点のうちのいずれかが「クロスオーバー時点」として選択され得る。「十分な時間が経過」は、測定の目的上、共鳴単位（RU）の値の測定時点が「クロスオーバー時点」よりも十分に後であることを意味する。いくつかの態様において、共鳴単位（RU）の値の測定時点は、抗体注入開始時点の少

なくとも60秒後、100秒後、150秒後、200秒後、500秒後、700秒後、1000秒後、1500秒後、または2000秒後である。あるいは、測定時点は、クロスオーバー時点の少なくとも100秒後、200秒後、300秒後、400秒後、500秒後、600秒後、700秒後、800秒後、900秒後、1000秒後、3000秒後、5000秒後、7000秒後、または10000秒後であり得る。

【０１０１】

一局面において、C1qとC1r2s2複合体との間の相互作用を阻害する本発明の単離された抗体は、例えば「C1r2s2複合体およびC1qの捕捉量が、それぞれ200共鳴単位（RU）および200共鳴単位（RU）であり、アナライトとして500 nMの抗体を10マイクロリットル（μL）/分で注入する」という条件でのBIACORE（登録商標）アッセイにおいて（例えば、BIACORE（登録商標）アッセイにおける）クロスオーバー時点が抗体注入開始時点の後60秒以内、100秒以内、150秒以内、200秒以内、500秒以内、700秒以内、1000秒以内、1500秒以内、または2000秒以内である場合に、解離促進機能を有する抗体であると判定され得る。

【０１０２】

一局面において、C1qとC1r2s2複合体との間の相互作用を阻害する本発明の単離された抗体は、例えば「C1r2s2複合体およびC1qの捕捉量が、それぞれ200共鳴単位（RU）および200共鳴単位（RU）であり、アナライトとして500 nMの抗体を10μL/分で注入する」という条件でのBIACORE（登録商標）アッセイにおいて、抗体注入開始時点の後100秒以内、300秒以内、500秒以内、700秒以内、1000秒以内、1500秒以内、2000秒以内、3000秒以内、5000秒以内、7000秒以内、または10000秒以内に、C1qのほぼすべて（またはすべて）がC1qrs複合体から解離する場合に、解離促進機能を有する抗体であると判定され得る。例えば、そのようなアッセイから得られるセンサーグラムにおいて、C1qおよび抗体の存在下での値（RU）が抗体の存在下かつC1qの非存在下での値（RU）に近いまたはその値に達する場合に、「C1qのほぼすべて（またはすべて）がC1qrs複合体から解離する」と判定され得る。本明細書において、「（C1qの）ほぼすべて」は、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、またはそれより高い割合を表し、「（C1qの）すべて」は、割合100%を表す。解離するC1qの割合は、本明細書に記載される任意のアッセイによって定量的に決定され得る。いくつかの局面において、本発明は、C1r2s2複合体からのC1qの解離を促進させる抗体のスクリーニング方法であって、そのような抗体の「解離促進機能／活性」を測定する上記方法を用いる、スクリーニング方法を提供する。一態様において、このスクリーニング方法は、C1qとC1r2s2複合体との間の相互作用を阻害する抗体を選択する工程、すなわち、C1qrs複合体に結合してC1qrs複合体からのC1qの解離を促進させる抗体を選択する工程を含む。解離促進機能／活性を有する抗体は、表面プラズモン共鳴アッセイ、例えば本明細書に記載されるBIACORE（登録商標）アッセイを用いて適切に選択され得る。いくつかの態様において、このスクリーニング方法は、十分な時間が経過した時に、表面プラズモン共鳴アッセイ、例えばBIACORE（登録商標）アッセイによって、（i）抗体の存在下での共鳴単位（RU）の値および（ii）抗体の非存在下での共鳴単位（RU）の値を決定する工程を含む。このスクリーニング方法は、上記（i）の値と上記（ii）の値を比較する工程を含み得る。このスクリーニング方法は、上記（i）の値が上記（ii）の値を下回る場合に、その抗体を選択する工程を含み得る。このスクリーニング方法は、C1qの存在下かつ抗体の非存在下での曲線がC1qおよび抗体の存在下での曲線と交差する「クロスオーバー時点」を特定する工程を含み得る。上記のように、一つのセンサーグラムにおいてさえも複数のクロスオーバー時点が観察され得、複数のクロスオーバー時点のいずれかが、「クロスオーバー時点」として選択され得る。いくつかの態様において、このスクリーニング方法は、抗体注入開始時点の少なくとも60秒後、100秒後、150秒後、200秒後、500秒後、700秒後、1000秒後、1500秒後、または2000秒後に共鳴単位（RU）の値を測定する工程を含み得る。あるいは、このスクリーニン

グ方法は、クロスオーバー時点の少なくとも100秒後、200秒後、300秒後、400秒後、500秒後、600秒後、700秒後、800秒後、900秒後、1000秒後、3000秒後、5000秒後、7000秒後、または10000秒後に共鳴単位（RU）の値を測定する工程を含み得る。いくつかの態様において、このスクリーニング方法は、C1qとC1r2s2複合体との間の相互作用を阻害する抗体または解離促進機能を有する抗体を選択する工程であって、例えば「C1r2s2複合体およびC1qの捕捉量が、それぞれ200共鳴単位（RU）および200共鳴単位（RU）であり、アナライトとして500 nMの抗体を10マイクロリットル（μL）/分で注入する」という条件でのBIACORE（登録商標）アッセイにおいてその抗体のクロスオーバー時点が抗体注入開始時点の後60秒以内、100秒以内、150秒以内、200秒以内、500秒以内、700秒以内、1000秒以内、1500秒以内、または2000秒以内である場合にその抗体を選択する工程を含み得る。いくつかの態様において、このスクリーニング方法は、C1qとC1r2s2複合体との間の相互作用を阻害する抗体または解離促進機能を有する抗体を選択する工程であって、例えば「C1r2s2複合体およびC1qの捕捉量が、それぞれ200共鳴単位（RU）および200共鳴単位（RU）であり、アナライトとして500 nMの抗体を10μL/分で注入する」という条件でのBIACORE（登録商標）アッセイにおいて、抗体注入開始時点の後100秒以内、300秒以内、500秒以内、700秒以内、1000秒以内、1500秒以内、2000秒以内、3000秒以内、5000秒以内、7000秒以内、または10000秒以内に、C1qのほぼすべて（またはすべて）がC1qrs複合体から解離する場合にその抗体を選択する工程を含み得る。上記のように、「（C1qの）ほぼすべて」は、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、またはそれより高い割合を表し、「（C1qの）すべて」は100%を表し、解離するC1qの割合は、BIACORE（登録商標）アッセイを含む本明細書に記載される任意のアッセイによって定量的に決定され得る。

【０１０３】

（BIACORE（登録商標）／ブロッキングのコンセプト）

一局面において、本発明は、C1qとC1r2s2複合体との間の相互作用を阻害する単離された抗体を提供し、この抗体は、この抗体がC1r2s2に結合してC1r2s2に対するC1qの結合を阻害するようなブロッキング機能を有する。さらなる局面において、本発明の抗体は、少なくとも60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、またはそれより高いブロッキング比率を有する。このブロッキング機能／活性またはブロッキング比率は、BIACORE（登録商標）アッセイを用いることによって決定され得る。C1qブロッキングのレベルを評価するために、以下の条件が使用され得る：C1r2s2の捕捉量は、50、100、200、400共鳴単位（RU）を目標とする。250、500、1000、2000 nMの抗体変異体を注入して抗体結合を飽和させ、続いて、250、500、1000、2000 nMの抗体変異体と共にまたはそれなしで50、100、200 nMのヒトC1qを注入する。ブロッキング比率は、次の式により算出する：[1-(抗体変異体の存在下でのヒトC1q結合応答/抗体変異体の非存在下でのヒトC1q結合応答)]×100%。

【０１０４】

（pH依存性）

一局面において、本発明の抗体は、pH依存的な様式で、抗原（例えばC1s）に結合するか、またはC1r2s2複合体に結合する。好ましい態様において、本発明は、（C1sへの結合を通じて）C1qとC1r2s2複合体との間の相互作用を阻害する単離された抗体であって、pH5.8におけるその抗原結合活性（すなわち、C1sに対する結合活性）がpH7.4におけるよりも低い、抗体を提供する。好ましい態様において、この抗体は、C1sのCUB1-EGF-CUB2ドメイン内のエピトープに特異的に結合し、この抗体の抗原結合活性は、pH 7.4よりもpH 5.8において低い。

【０１０５】

pH依存的な様式でのC1sへの結合に加えて、C1sに対するpH依存的抗体のアフィニティに対するカルシウムの影響が、別の重要な特性であり得る。C1sは、高カルシウム濃度下

で二量体を形成するが、低カルシウム濃度下では単量体へと解離する。C1sが二量体状態にあるとき、二価抗体は、複数のC1s分子を架橋することによって免疫複合体を形成することができる。これにより、抗体は、アフィニティ型およびアビディティ型の両方の相互作用によって複合体内のC1s分子に結合することができ、それによってその抗体の見かけのアフィニティが増加する。これに対して、C1sが単量体状態にあるとき、抗体はアフィニティ型相互作用によってのみC1sに結合する。これは、pH依存的C1s抗体は血漿中の二量体C1sと免疫複合体を形成することができるが、酸性のエンドソーム内に入るとC1sは単量体へと解離することを意味する。これにより、免疫複合体が解体され、それが抗原からの抗体のpH依存的解離を増強する。

【０１０６】

一局面において、本発明の単離された抗C1s抗体について、中性pHおよび酸性pHの両方において高カルシウム濃度下で測定された場合、中性pHでのそのC1s結合活性のKD値に対する酸性pHでのそのC1s結合活性のKD値の比（KD(酸性pH)/KD(中性pH)）は2以上である。一局面において、本発明の単離された抗C1s抗体について、中性pHにおける高カルシウム濃度下および酸性pHにおける低カルシウム濃度下で測定された場合、中性pHでのそのC1s結合活性のKD値に対する酸性pHでのそのC1s結合活性のKD値の比（KD(酸性pH)/KD(中性pH)）は2以上である。いくつかの態様において、本発明の単離された抗C1s抗体について、中性pHおよび酸性pHの両方において低カルシウム濃度下で測定された場合、中性pHでのそのC1s結合活性のKD値に対する酸性pHでのそのC1s結合活性のKD値の比（KD(酸性pH)/KD(中性pH)）は2以上であり、ここで該抗C1s抗体は二量体状態のC1sに結合する。

【０１０７】

特定の理論に縛られるわけではないが、1）本発明の抗体によって結合されるC1sのエピトープ構造がカルシウムの非存在によって立体構造的に変化し得、それによって抗体のアフィニティが変わる場合、または2）本発明の抗体の相互作用（アフィニティ型もしくはアビディティ型）がC1sの状態（単量体状態もしくは二量体状態）に依存して変化し得る場合、KD値の比（KD(酸性pH)/KD(中性pH)）を評価するために、特定の条件（中性pHにおける高カルシウム濃度下および酸性pHにおける低カルシウム濃度下）を使用する測定が使用され得る。

【０１０８】

換言すると、本発明の抗体は、以下の（i）または（ii）に記載されるように酸性pHよりも中性pHにおいて高いアフィニティでC1sに結合する：

（i）中性pHおよび酸性pHの両方において高カルシウム濃度下で測定された場合、中性pHでのC1s結合活性のKD値に対する酸性pHでのC1s結合活性のKD値の比（KD(酸性pH)/KD(中性pH)）が2以上である、

（ii）中性pHにおける高カルシウム濃度下および酸性pHにおける低カルシウム濃度下で測定された場合、中性pHでのC1s結合活性のKD値に対する酸性pHでのC1s結合活性のKD値の比（KD(酸性pH)/KD(中性pH)）が2以上である。

【０１０９】

より一般的には、特定の理論に縛られるわけではないが、1）本発明の抗体によって結合される特定の抗原のエピトープ構造がカルシウムの非存在によって立体構造的に変化し得、それによって抗体のアフィニティが変わる場合、または2）本発明の抗体の相互作用（アフィニティ型もしくはアビディティ型）が抗原の状態（単量体状態もしくは二量体状態）に依存して変化し得る場合、KD値の比（KD(酸性pH)/KD(中性pH)）を評価するために特定の条件（中性pHにおける高カルシウム濃度下および酸性pHにおける低カルシウム濃度下）を使用する測定が使用され得る。

【０１１０】

したがって、本発明の抗体は、以下のように酸性pHよりも中性pHにおいて高いアフィニティで抗原に結合する：中性pHにおける高カルシウム濃度下および酸性pHにおける低カルシウム濃度下で測定された場合、中性pHにおける抗原結合活性のKD値に対する酸性p

Hにおける抗原結合活性のKD値の比（KD(酸性pH)/KD(中性pH)）が2以上である。

【０１１１】

上記のKD比、すなわちKD(酸性pH)/KD(中性pH)は、親抗体（すなわち、本発明の改変前の元の抗体）と当該元の（親）抗体に対して1つまたは複数のアミノ酸変異（例えば、付加、挿入、欠失または置換）が導入された抗体との間で比較され得る。元の（親）抗体は、それがC1sに特異的に結合する限り、任意の公知の抗体または新たに単離された抗体であり得る。したがって、一局面において、本発明の単離された抗C1s抗体について、中性pHでのC1s結合活性のKD値に対する酸性pHでのC1s結合活性のKD値の比（KD(酸性pH)/KD(中性pH)）は、その元の（親）抗体の中性pHでのC1s結合活性のKD値に対する酸性pHでのC1s結合活性のKD値の比（KD(酸性pH)/KD(中性pH)）よりも少なくとも1.2倍、1.4倍、1.6倍、1.8倍、2倍、3倍、3.5倍、4倍、5倍、8倍、10倍高い。換言すると、本発明は、親（元の）抗体に1つまたは複数のアミノ酸変異（例えば、付加、挿入、欠失または置換）が導入され、以下の（ii）に対する（i）の比が少なくとも1.2、1.4、1.6、1.8、2、2.5、3、3.5、4、5、8または10である、単離された抗C1s抗体を提供する：（i）単離された抗C1s抗体の中性pHでのC1s結合活性のKD値に対する酸性pHでのC1s結合活性のKD値の比（KD(酸性pH)/KD(中性pH)）；（ii）親（元の）抗体の中性pHでのC1s結合活性のKD値に対する酸性pHでのC1s結合活性のKD値の比（KD(酸性pH)/KD(中性pH)）。これらのKD比は、任意の（高または低）カルシウム濃度下で測定され得る、例えば、中性pHおよび酸性pHの両方において高カルシウム濃度下で測定され得る、または中性pHにおける高カルシウム濃度下および酸性pHにおける低カルシウム濃度下で測定され得る。

【０１１２】

一局面において、本発明の抗体は、細胞内条件と細胞外条件の間で異なる抗原結合活性を有する。細胞内条件および細胞外条件は、細胞の内部と外部の間の異なる条件のことをいう。条件のカテゴリーには、例えば、イオン濃度、より具体的には金属イオン濃度、水素イオン濃度（pH）およびカルシウムイオン濃度が含まれる。「細胞内条件」は、好ましくは、エンドソーム内の環境に特徴的な環境のことをいい、「細胞外条件」は、好ましくは、血漿中の環境に特徴的な環境のことをいう。イオン濃度に応じて変化する抗原結合活性を有するという特性を持つ抗体は、そのような特性を有するドメインについて多数の抗体をスクリーニングすることによって取得され得る。例えば、上記の特性を有する抗体は、その配列が相互に異なる多数の抗体をハイブリドーマ法または抗体ライブラリー法によって産生し、異なるイオン濃度下でそれらの抗原結合活性を測定することによって取得され得る。B細胞クローニング法は、そのような抗体をスクリーニングする方法の例の1つである。さらに、後述のように、イオン濃度に応じて変化する抗原結合活性を有するという特性を抗体に付与し得る少なくとも1つの特徴的なアミノ酸残基が特定され、当該特徴的なアミノ酸残基を共通構造として共有しつつ異なる配列を有する多数の抗体のライブラリーが調製される。そのようなライブラリーは、上記の特性を有する抗体を効果的に単離するためにスクリーニングされ得る。

【０１１３】

一局面において、本発明は、酸性pHよりも中性pHにおいて高いアフィニティでC1sに結合する抗体を提供する。別の局面において、本発明は、C1sに対してpH依存的結合を示す抗C1s抗体を提供する。本明細書で使用される表現「pH依存的結合」は、「中性pHでの結合と比較して低下した、酸性pHでの結合」を意味し、両表現は交換可能であり得る。例えば、「pH依存的結合特性を有する」抗C1s抗体には、酸性pHよりも中性pHにおいて高いアフィニティでC1sに結合する抗体が含まれる。

【０１１４】

特定の態様において、中性pHおよび酸性pHの両方において高カルシウム濃度下で測定された場合、中性pHでのC1s結合活性のKD値に対する酸性pHでのC1s結合活性のKD値の比（KD(酸性pH)/KD(中性pH)）は、2以上である。特定の態様において、本発明の抗体は、中性pHにおいて、酸性pHにおけるよりも少なくとも2、3、5、10、15、20、25、30

、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100、200、400、1000、10000倍、またはそれより高いアフィニティでC1sに結合する。

【０１１５】

特定の態様において、中性pHにおける高カルシウム濃度下および酸性pHにおける低カルシウム濃度下で測定された場合、中性pHでのC1s結合活性のKD値に対する酸性pHでのC1s結合活性のKD値の比（KD(酸性pH)/KD(中性pH)）は、2以上である。特定の態様において、本発明の抗体は、中性pHにおいて、酸性pHにおけるよりも少なくとも2、3、4、4.1、4.2、4.3、4.4、4.5、4.6、4.7、4.8、4.9、5.0、5.1、5.2、5.3、5.4、5.5、5.6、5.7、5.8、5.9、6.0、6.5、7.0、7.5、8.0、8.5、9.0、9.5、10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100、200、400、1000、10000倍、またはそれより高いアフィニティでC1sに結合する。

【０１１６】

上記の例において、例えば、酸性pHは5.8であり、中性pHは7.4であり、したがってKD(酸性pH)/KD(中性pH)は、KD(pH 5.8)/KD(pH 7.4)である。これに関して、酸性pHおよび中性pHの例が、本明細書において詳細に後記されている。いくつかの態様において、KD(酸性pH)/KD(中性pH)、例えばKD(pH 5.8)/KD(pH 7.4)は、2～10,000であり得る。

【０１１７】

抗原が可溶性タンパク質である場合、抗体が抗原自身よりも血漿中で長い半減期を有し得かつ抗原のキャリアとして機能し得るため、抗体の抗原への結合は、抗原の血漿中半減期の延長（すなわち、血漿からの抗原のクリアランスの低減）をもたらし得る。これは、細胞内のエンドソーム経路を介したFcRnによる抗原-抗体複合体のリサイクルに起因する（Roopenian and Akilesh (2007) Nat Rev Immunol 7(9): 715-725）。しかし、中性の細胞外環境下では抗原に結合するが細胞内への侵入後は酸性のエンドソーム区画内に抗原を放出する、pH依存的結合特性を有する抗体は、pH非依存的様式で結合する対応物に比べて抗原の中和およびクリアランスの点で優れた特性を有すると予想される（Igawa et al (2010) Nature Biotechnol 28(11); 1203-1207; Devanaboyina et al (2013) mAbs 5(6): 851-859; 国際特許出願公開番号：WO 2009/125825）。

【０１１８】

一局面において、本発明は、低カルシウム濃度条件下よりも高カルシウム濃度条件下において高いアフィニティでC1sに結合する抗体を提供する。

【０１１９】

本発明において、好ましい金属イオンには、例えば、カルシウムイオンが含まれる。カルシウムイオンは、筋肉、例えば骨格筋、平滑筋および心筋の収縮；白血球の運動、食作用等の活性化；血小板の形状変化、分泌等の活性化；リンパ球の活性化；ヒスタミンの分泌を含むマスト細胞の活性化；カテコールアミンアルファ受容体またはアセチルコリン受容体により媒介される細胞応答；エクソサイトーシス；ニューロン末端からの伝達物質の放出；ならびにニューロンにおける軸索流を含む、多くの生物学的現象の調整に関与する。公知の細胞内カルシウムイオン受容体には、トロポニンC、カルモジュリン、パルブアルブミンおよびミオシン軽鎖が含まれ、これらは、いくつかのカルシウムイオン結合部位を有し、分子進化の点で共通起源から派生していると考えられている。また、多くのカルシウム結合モチーフが公知となっている。そのような周知のモチーフには、例えば、カドヘリンドメイン、カルモジュリンのEFハンド、プロテインキナーゼCのC2ドメイン、血液凝固タンパク質第IX因子のGlaドメイン、アシアロ糖タンパク質受容体およびマンノース結合受容体のC型レクチン、LDL受容体のAドメイン、アネキシン、トロンボスポンジン3型ドメインならびにEGF様ドメインが含まれる。

【０１２０】

本発明においては、金属イオンがカルシウムイオンの場合には、高カルシウムイオン濃度条件下における抗原結合活性よりも低カルシウムイオン濃度条件下における抗原結合活性の方が低いことが望ましい。一方、細胞内カルシウムイオン濃度は、細胞外カルシウムイオン濃度よりも低い。逆に、細胞外カルシウムイオン濃度は、細胞内カルシウムイオン

濃度よりも高い。本発明において、低カルシウムイオン濃度は、好ましくは0.1μM～30μMであり、より好ましくは0.5μM～10μMであり、特に好ましくは生体内の早期エンドソーム内のカルシウムイオン濃度に近い1μM～5μMである。一方、本発明において、高カルシウムイオン濃度は、好ましくは100μM～10μMであり、より好ましくは200μM～5 mMであり、特に好ましくは血漿中（血中）のカルシウムイオン濃度に近い0.5 mM～2.5 mMである。本発明では、低カルシウムイオン濃度がエンドソーム内のカルシウムイオン濃度であり、高カルシウムイオン濃度が血漿中のカルシウムイオン濃度であることが好ましい。抗原結合活性のレベルを低カルシウムイオン濃度下と高カルシウムイオン濃度下で比較した場合、本発明の抗体の結合は、低カルシウムイオン濃度下よりも高カルシウムイオン濃度下で強いことが好ましい。換言すると、本発明の抗体の抗原結合活性は、高カルシウムイオン濃度下よりも低カルシウムイオン濃度下で低いことが好ましい。結合活性のレベルを解離定数（KD）で表す場合、KD(低カルシウムイオン濃度)/KD(高カルシウムイオン濃度)の値は1より大きく、好ましくは2以上であり、さらにより好ましくは10以上であり、さらにより好ましくは40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100、200、400、1000、10000、またはそれより大きい。KD(低カルシウムイオン濃度)/KD(高カルシウムイオン濃度)の値の上限は特に限定されず、当業者の技術において作製可能な限り、100、400、1000、または10000等、いかなる値でもよい。KDの代わりに解離速度定数（kd）を用いることも可能である。KD値を計算することが困難である場合は、BIACORE (登録商標)において同じ濃度でアナライトを流したときの結合反応性のレベルに基づいて活性を評価してもよい。本発明の抗原結合分子を固定化したチップ上に抗原を流した場合、低カルシウム濃度下での結合反応性は、高カルシウム濃度下での結合反応性の好ましくは1/2以下であり、より好ましくは1/3以下であり、さらにより好ましくは1/5以下であり、特に好ましくは1/10以下である。一般に、生体内の細胞外（例えば血漿中）のカルシウムイオン濃度は高く、細胞内（例えばエンドソーム内）のカルシウムイオン濃度は低いことが知られている。そのため本発明では、細胞外条件が高カルシウムイオン濃度であり、細胞内条件が低カルシウムイオン濃度であることが好ましい。細胞外のカルシウムイオン濃度条件下に比べて細胞内のカルシウムイオン濃度条件下では抗原結合活性が低いという特性を本発明の抗原結合分子（例えば、抗体）に付与する場合、細胞外で本発明の抗原結合分子に結合した抗原は細胞内で本発明の抗原結合分子から解離し、それによって細胞外から細胞内への抗原の取り込みが増強される。そのような抗体を生体に投与する場合、血漿中の抗原濃度を低下させ、生体における抗原の生理活性を低減させることが可能となるので、本発明の抗体は有用である。高カルシウムイオン濃度条件に比べて低カルシウムイオン濃度条件下で抗原結合活性が低い抗原結合ドメインまたは抗体をスクリーニングする方法には、例えばWO2012/073992（例えば、段落0200～0213）に記載の方法が含まれる。高カルシウムイオン濃度条件に比べて低カルシウムイオン濃度条件下で抗原に弱く結合する特性を本発明の抗原結合ドメインに付与する方法は特に限定されず、いかなる方法によって行われてもよい。具体的には、その方法は、特願2011-218006号に記載されており、例えば、抗原結合ドメインにおいて、少なくとも1つのアミノ酸残基を、金属キレート作用を有するアミノ酸残基に置換する方法、および/または金属キレート作用を有する少なくとも1つのアミノ酸残基を抗原結合ドメインに挿入する方法を含む。抗原結合ドメインの少なくとも1つのアミノ酸残基が金属キレート作用を有するアミノ酸残基に置換されている、および/または金属キレート作用を有する少なくとも1つのアミノ酸残基が抗原結合ドメインに挿入されている本発明の抗原結合分子は、本発明の抗原結合分子の好ましい態様の1つである。

【０１２１】

金属キレート作用を有するアミノ酸残基は、好ましくは、例えば、セリン、スレオニン、アスパラギン、グルタミン、アスパラギン酸およびグルタミン酸を含む。また、カルシウムイオン濃度に応じて抗原結合ドメインの抗原結合活性を変化させるアミノ酸残基は、好ましくは、例えば、カルシウム結合モチーフを形成するアミノ酸残基を含む。カルシウム結合モチーフは、当業者に周知であり、詳細に報告されている（例えば、Springer et

al., (Cell (2000) 102, 275-277); Kawasaki and Kretsinger (Protein Prof. (1995) 2, 305-490); Moncrief et al., (J. Mol. Evol. (1990) 30, 522-562); Chauvaux et al., (Biochem. J. (1990) 265, 261-265); Bairoch and Cox (FEBS Lett. (1990) 269, 454-456); Davis (New Biol. (1990) 2, 410-419); Schaefer et al., (Genomics (1995) 25, 638 to 643); Economou et al., (EMBO J. (1990) 9, 349- 354); Wurzburg et al., (Structure. (2006) 14, 6, 1049-1058)）。トロポニンC、カルモジュリン、パルブアルブミン、およびミオシン軽鎖のEFハンド；プロテインキナーゼCのC2ドメイン；血液凝固タンパク質第IX因子のGlaドメイン；アシアロ糖タンパク質受容体およびマンノース結合受容体、ASGPR、CD23、およびDC-SIGNのC型レクチン；LDL受容体のAドメイン；アネキシンドメイン；カドヘリンドメイン；トロンボスポンジン3型ドメイン；ならびにEGF様ドメインが、カルシウム結合モチーフとして好適に使用される。

【０１２２】

本発明の抗原結合ドメインには、前記の金属キレート作用を有するアミノ酸残基やカルシウム結合モチーフを形成するアミノ酸残基などのカルシウムイオン濃度に応じて抗原結合活性を変化させるアミノ酸残基が含まれ得る。抗原結合ドメイン内でのそのようなアミノ酸残基の位置は特に限定されず、カルシウムイオン濃度に応じて抗原結合活性が変化する限り、どのような位置であってもよい。また、カルシウムイオン濃度に応じて抗原結合活性を変化させる限り、そのようなアミノ酸残基が単独で含まれていてもよいし、二つ以上組み合わされて含まれていてもよい。そのようなアミノ酸残基としては、セリン、スレオニン、アスパラギン、グルタミン、アスパラギン酸およびグルタミン酸が好適に例示される。抗原結合ドメインが抗体の可変領域である場合、重鎖可変領域および/または軽鎖可変領域にそれらのアミノ酸残基を含むことができる。好ましい態様において、それらのアミノ酸残基が重鎖可変領域のCDR3に含まれていてもよく、より好ましくは重鎖可変領域のCDR3のKabatナンバリングで表される95位、96位、100a位および/または101位に含まれていてもよい。

【０１２３】

別の好ましい態様において、それらのアミノ酸残基が軽鎖可変領域のCDR1に含まれていてもよく、より好ましくは軽鎖可変領域のCDR1のKabatナンバリングで表される30位、31位および/または32位に含まれていてもよい。また別の好ましい態様において、それらのアミノ酸残基が軽鎖可変領域のCDR2に含まれていてもよく、より好ましくは軽鎖可変領域のCDR2のKabatナンバリングで表される50位に含まれていてもよい。また別の好ましい態様において、それらのアミノ酸残基が軽鎖可変領域のCDR3に含まれていてもよく、より好ましくは軽鎖可変領域のCDR3のKabatナンバリングで表される92位に含まれていてもよい。

【０１２４】

さらに、前記の態様は組み合わせられてもよく、例えば軽鎖可変領域のCDR1、CDR2およびCDR3から選択される2つまたは3つのCDRに当該アミノ酸残基が含まれていてもよく、より好ましくは、軽鎖可変領域のKabatナンバリングで表される30位、31位、32位、50位および/または92位のいずれか1つ以上に含まれていてもよい。

【０１２５】

前記のようなカルシウムイオン濃度に応じて抗原結合活性を変化させるアミノ酸残基を共通の構造として有しつつ互いに配列の異なる多数の抗原結合ドメインをライブラリーとして作製し、そうしたライブラリーの中からスクリーニングを行なうことによって、所望の抗原に対する結合活性を有し、なおかつカルシウムイオン濃度に応じて抗原結合活性が変化する抗原結合ドメインを効率的に取得することができる。

【０１２６】

C1sに対する抗体の「アフィニティ」は、本開示の目的では、その抗体のKDで表される。抗体のKDは、抗体-抗原相互作用の平衡解離定数を指す。その抗原に対する抗体の結合のKD値が大きいほど、当該特定の抗原に対するその結合アフィニティは弱い。したがって、本明細書で使用される表現「酸性pHによりも中性pHにおいて高いアフィニティ」（ま

たは同等の表現「pH依存的結合」）は、酸性pHでの抗体のKDが中性pHでの抗体のKDよりも大きいことを意味する。例えば、本発明の文脈において、酸性pHでの抗体のC1sへの結合のKDが中性pHでの抗体のC1sへの結合のKDよりも少なくとも2倍大きい場合、当該抗体は、酸性pHよりも中性pHにおいて高いアフィニティでC1sに結合するとみなされる。したがって、本発明は、中性pHでの抗体のC1sへの結合のKDよりも少なくとも2、3、5、10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100、200、400、1000、10000倍、またはそれ以上大きいKDで酸性pHにおいてC1sに結合する抗体を含む。別の態様において、中性pHでの該抗体のKD値は、10^{-7} M、10^{-8} M、10^{-9} M、10^{-10} M、10^{-11} M、10^{-12} M、またはそれ未満であり得る。別の態様において、酸性pHでの該抗体のKD値は、10^{-9} M、10^{-8} M、10^{-7} M、10^{-6} M、またはそれ以上であり得る。

【０１２７】

特定の抗原に対する結合特性はまた、抗体のkdで表され得る。抗体のkdは、特定の抗原に対する抗体の解離速度定数を指し、秒の逆数（すなわち、sec^{-1}）の単位で表される。kd値の増加は、抗体のその抗原への結合がより弱いことを意味する。したがって、本発明は、中性pHよりも酸性pHにおいて高いkd値でC1sに結合する抗体を含む。本発明は、中性pHにおけるC1sに対する抗体の結合のkdよりも少なくとも2、3、5、10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100、200、400、1000、10000倍、またはそれ以上大きいkdで酸性pHにおいてC1sに結合する抗体を含む。別の態様において、中性pHでの抗体のkd値は、10^{-2} 1/s、10^{-3} 1/s、10^{-4} 1/s、10^{-5} 1/s、10^{-6} 1/s、またはそれ未満であり得る。別の態様において、酸性pHでの抗体のkd値は、10^{-3} 1/s、10^{-2} 1/s、10^{-1} 1/s、またはそれ以上であり得る。

【０１２８】

特定の例において、「中性pHでの結合と比較して低下した、酸性pHでの結合」は、中性pHでの抗体のKD値に対する酸性pHでの抗体のKD値の比（またはその逆）で表される。例えば、抗体が2以上の酸性/中性KD比を示す場合、本発明の目的に関して、その抗体は「中性pHでのC1sへの結合と比較して低下した、酸性pHでのC1sへの結合」を示すとみなされ得る。特定の例示的な態様において、本発明の抗体における酸性/中性KD比は、2、3、5、10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100、200、400、1000、10000倍、またはそれ以上であり得る。別の態様において、中性pHでの抗体のKD値は、10^{-7} M、10^{-8} M、10^{-9} M、10^{-10} M、10^{-11} M、10^{-12} M、またはそれ未満であり得る。別の態様において、酸性pHでの抗体のKD値は、10^{-9} M、10^{-8} M、10^{-7} M、10^{-6} M、またはそれ以上であり得る。

【０１２９】

特定の例において、「中性pHでの結合と比較して低下した、酸性pHでの結合」は、中性pHでの抗体のkd値に対する酸性pHでの抗体のkd値の比（またはその逆）で表される。例えば、抗体が2以上の酸性/中性kd比を示す場合、本発明の目的に関して、その抗体は「中性pHでのC1sへの結合と比較して低下した、酸性pHでのC1sへの結合」を示すとみなされ得る。特定の例示的な態様において、本発明の抗体における酸性/中性kd比は、2、3、5、10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100、200、400、1000、10000倍、またはそれ以上であり得る。別の態様において、中性pHでの抗体のkd値は、10^{-2} 1/s、10^{-3} 1/s、10^{-4} 1/s、10^{-5} 1/s、10^{-6} 1/s、またはそれ未満であり得る。別の態様において、酸性pHでの抗体のkd値は、10^{-3} 1/s、10^{-2} 1/s、10^{-1} 1/s、またはそれ以上であり得る。

【０１３０】

本明細書で使用される表現「酸性pH」は、pH 4.0～6.5を意味する。表現「酸性pH」には、pH値4.0、4.1、4.2、4.3、4.4、4.5、4.6、4.7、4.8、4.9、5.0、5.1、5.2、5.3、5.4、5.5、5.6、5.7、5.8、5.9、6.0、6.1、6.2、6.3、6.4、および6.5が含まれる。特定の局面において、「酸性pH」は5.8または6.0である。

【０１３１】

本明細書で使用される表現「中性pH」は、pH 6.7～約10.0を意味する。表現「中性pH」には、pH値6.7、6.8、6.9、7.0、7.1、7.2、7.3、7.4、7.5、7.6、7.7、7.8、7.9、8.0、8.1、8.2、8.3、8.4、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、および10.0が含まれる。特定の局面において、「中性pH」は7.0または7.4である。

【０１３２】

本明細書で使用される表現「高カルシウム濃度条件下」または「高カルシウム濃度下」は、100μM～10 mM、より好ましくは200μM～5 mM、特に好ましくは血漿中（血中）のカルシウムイオン濃度に近い0.5 mM～2.5 mMを意味する。表現「高カルシウム濃度条件下」または「高カルシウム濃度において」は、100μM、200μM、300μM、400μM、500μM、600μM、700μM、800μM、900μM、0.5 mM、0.7 mM、0.9 mM、1 mM、1.2 mM、1.4 mM、1.6 mM、1.8 mM、2.0 mM、2.2 mM、2.4 mM、2.5 mM、3 mM、4 mM、5 mM、6 mM、7 mM、8 mM、9 mMおよび10 mM Ca^{2+}のカルシウム濃度値を含む。特定の局面において、「高カルシウム濃度条件下」または「高カルシウム濃度下」は1.2 mM Ca^{2+}を表す。

【０１３３】

本明細書で使用される表現「低カルシウム濃度条件下」または「低カルシウム濃度下」は、0.1μM～30μM、より好ましくは0.5μM～10μM、特に好ましくは生体内の早期エンドソーム内のカルシウムイオン濃度に近い1μM～5μMを意味する。表現「低カルシウム濃度条件下」または「低カルシウム濃度において」は、0.1μM、0.5μM、1μM、1.5μM、2.0μM、2.5μM、2.6μM、2.7μM、2.8μM、2.9μM、3.0μM、3.1μM、3.2μM、3.3μM、3.4μM、3.5μM、4.0μM、5.0μM、6.0μM、7.0μM、8.0μM、9.0μM、10μM、15μM、20μM、25μMおよび30μM Ca^{2+}のカルシウム濃度値を含む。特定の局面において、「低カルシウム濃度条件下」または「低カルシウム濃度下」は、3.0μM Ca^{2+}を表す。

【０１３４】

本明細書で表されるKD値およびkd値を、表面プラズモン共鳴に基づくバイオセンサを用いて決定して、抗体-抗原相互作用を特徴づけることができる。（例えば、本明細書の実施例2を参照されたい。）KD値およびkd値は、摂氏25度（℃）または37℃で決定され得る。この決定は、150 mM NaClの存在下で実施され得る。いくつかの態様において、この決定は、抗体を固定化し、抗原をアナライトとして用い、以下の条件を使用する表面プラズモン共鳴技術を用いて実施され得る：摂氏37度（℃）で10 mM MES緩衝液、0.05％モノラウリン酸ポリオキシエチレンソルビタンおよび150 mM NaCl。

【０１３５】

一局面において、本発明は、個体における血漿からのC1sのクリアランスを増強する方法を提供する。いくつかの態様において、この方法は、血漿からのC1sのクリアランスを増強するのに有効な量の本発明の抗C1s抗体を個体に投与する工程を含む。本発明はまた、個体における血漿からのC1rおよびC1sの複合体のクリアランスを増強する方法を提供する。いくつかの態様において、この方法は、血漿からのC1rおよびC1sの複合体のクリアランスを増強するのに有効な量の本発明の抗C1s抗体を個体に投与する工程を含む。いくつかの態様において、この方法は、血漿からのC1r2s2のクリアランスを増強するのに有効な量の本発明の抗C1s抗体を個体に投与する工程を含む。いくつかの態様において、この方法は、血漿からのC1qのクリアランスを増強せずに血漿からのC1r2s2のクリアランスを増強するのに有効な量の本発明の抗C1s抗体を個体に投与する工程を含む。

【０１３６】

別の局面において、本発明は、血漿からC1sを除去する方法であって、（a）その血漿からC1sを除去する必要のある個体を同定する工程；（b）C1sに結合する抗体を提供する工程であって、該抗体が、該抗体の抗原結合（C1s結合）ドメインを通じてC1sに結合し、かつ2～10,000であるKD(pH 5.8)/KD(pH 7.4)値を有し、ここでKD(pH 5.8)/KD(pH 7.4)は、KDが表面プラズモン共鳴技術を用いて決定された場合のpH 5.8におけるC1sに

対するKDとpH 7.4におけるC1sに対するKDとの比と定義され、該抗体が、生体内の血漿中のC1sに結合し、生体内のエンドソーム内に存在する条件下では、結合したC1sから解離し、該抗体がヒトIgGまたはヒト化IgGである、工程；および（c）該抗体を個体に投与する工程を含む方法を提供する。さらなる局面において、そのような表面プラズモン共鳴技術は、37℃および150 mM NaClで使用され得る。さらなる局面において、そのような表面プラズモン共鳴技術、抗体を固定化し、抗原をアナライトとして使用し、かつ条件「37℃で10 mM MES緩衝液、0.05％モノラウリン酸ポリオキシエチレンソルビタン、および150 mM NaCl」を用いて、使用され得る。

【０１３７】

別の局面において、本発明は、対象において血漿からC1sを除去する方法であって、（a）第1の抗体を同定する工程であって、第1の抗体が第1の抗体の抗原結合ドメインを通じてC1sに結合する、工程；（b）第2の抗体を同定する工程であって、第2の抗体が、（1）第2の抗体の抗原結合（C1s結合）ドメインを通じてC1sに結合し、（2）第1の抗体の可変領域の少なくとも1つのアミノ酸がヒスチジンで置換されていること、および/または第1の抗体の可変領域に少なくとも1つのヒスチジンが挿入されていることを除いて、第1の抗体とアミノ酸配列が同一であり、（3）第1の抗体のKD(pH 5.8)/KD(pH 7.4)値よりも高くかつ2～10,000であるKD(pH 5.8)/KD(pH 7.4)値を有し、ここでKD(pH 5.8)/KD(pH 7.4)は、KDが表面プラズモン共鳴技術を用いて決定された場合のpH 5.8におけるC1sに対するKDとpH 7.4におけるC1sに対するKDとの比と定義され、（4）生体内の血漿中のC1sに結合し、（5）生体内のエンドソーム内に存在する条件下では、結合したC1sから解離し、かつ（6）ヒトIgGまたはヒト化IgGである、工程；（c）血漿中C1sレベルを減少させる必要のある対象を特定する工程；ならびに（d）対象の血漿中C1sレベルが減少するように第2の抗体を対象に投与する工程を含む方法を提供する。さらなる局面において、そのような表面プラズモン共鳴技術は、37℃および150 mM NaClで使用され得る。さらなる局面において、そのような表面プラズモン共鳴技術は、37℃および150 mM NaClで使用され得る。さらなる局面において、そのような表面プラズモン共鳴技術は、抗体を固定化し、抗原をアナライトとして使用し、かつ以下の条件「37℃で10 mM MES緩衝液、0.05％モノラウリン酸ポリオキシエチレンソルビタンおよび150 mM NaCl」を用いて、使用され得る。

【０１３８】

別の局面において、本発明は、対象において血漿からC1sを除去する方法であって、（a）第1の抗体を同定する工程であって、第1の抗体が、（1）第1の抗体の抗原結合ドメインを通じてC1sに結合し、（2）第1の抗体の少なくとも1つの可変領域が、第2の抗体の対応する可変領域よりも少なくとも1つ多いヒスチジン残基を有することを除いて、第2の抗体の抗原結合（C1s結合）ドメインを通じてC1sに結合する第2の抗体とアミノ酸配列が同一であり、（3）第2の抗体のKD(pH 5.8)/KD(pH 7.4)値よりも高くかつ2～10,000であるKD(pH 5.8)/KD(pH 7.4)値を有し、ここでKD(pH 5.8)/KD(pH 7.4)は、KDが表面プラズモン共鳴技術を用いて決定された場合のpH 5.8におけるC1sに対するKDとpH 7.4におけるC1sに対するKDとの比と定義され、（4）生体内の血漿中のC1sに結合し、（5）生体内のエンドソーム内に存在する条件下では、結合したC1sから解離し、かつ（6）ヒトIgGまたはヒト化IgGである、工程；（b）血漿中C1sレベルを減少させる必要のある対象を特定する工程；ならびに（c）対象の血漿中C1sレベルが減少するように第1の抗体を対象に少なくとも1回投与する工程を含む方法を提供する。さらなる局面において、そのような表面プラズモン共鳴技術は、37℃および150 mM NaClで使用され得る。さらなる局面において、そのような表面プラズモン共鳴技術は、37℃および150 mM NaClで使用され得る。さらなる局面において、そのような表面プラズモン共鳴技術は、抗体を固定化し、抗原をアナライトとして使用し、かつ条件「37℃で10 mM MES緩衝液、0.05％モノラウリン酸ポリオキシエチレンソルビタンおよび150 mM NaCl」を用いて、使用され得る。いくつかの例において、抗体は古典的補体経路の成分を阻害し、いくつかの例において、古典的補体経路の成分はC1sである。

【０１３９】
一局面において、本開示は、補体活性化を調整する方法を提供する。いくつかの態様において、この方法は、例えばC4b2aの産生を減少させるよう、補体活性化を阻害する。いくつかの態様において、本開示は、補体介在性の疾患または障害を有する個体において補体活性化を調整する方法であって、本開示の抗C1s抗体または本開示の薬学的組成物を個体に投与する工程を含み、ここで該薬学的組成物は本開示の抗C1s抗体を含む、方法を提供する。いくつかの態様において、そのような方法は、補体活性化を阻害する。いくつかの態様において、個体は、哺乳動物である。いくつかの態様において、個体は、ヒトである。投与は、本明細書で開示されるものを含む、当業者に公知の任意の経路によるものであり得る。いくつかの態様において、投与は静脈内投与である。いくつかの態様において、投与は髄腔内投与である。
【０１４０】
特定の態様において、本発明の抗C1s抗体は、2つ以上の種由来のC1sに結合する。特定の態様において、抗C1s抗体は、ヒトおよび非ヒト動物由来のC1sに結合する。特定の態様において、抗C1s抗体は、ヒト、ラットおよびサル（例えば、カニクイザル、アカゲザル、マーモセット、チンパンジーおよびヒヒ）由来のC1sに結合する。
【０１４１】
一局面において、本発明は、（a）SEQ ID NO:32、38、44、50または56のアミノ酸配列を含むHVR-H1；（b）SEQ ID NO:33、39、45、51または57のアミノ酸配列を含むHVR-H2；（c）SEQ ID NO:34、40、46、52または58のアミノ酸配列を含むHVR-H3；（d）SEQ ID NO:35、41、47、53または59のアミノ酸配列を含むHVR-L1；（e）SEQ ID NO:36、42、48、54または60のアミノ酸配列を含むHVR-L2；および（f）SEQ ID NO:37、43、49、55または61のアミノ酸配列を含むHVR-L3から選択される少なくとも1つ、2つ、3つ、4つ、5つまたは6つのHVRを含む抗C1s抗体を提供する。
【０１４２】
一局面において、本発明は、（a）SEQ ID NO:32、38、44、50または56のアミノ酸配列を含むHVR-H1；（b）SEQ ID NO:33、39、45、51または57のアミノ酸配列を含むHVR-H2；および（c）SEQ ID NO:34、40、46、52または58のアミノ酸配列を含むHVR-H3から選択される少なくとも1つ、少なくとも2つ、または3つすべてのVH HVR配列を含む抗C1s抗体を提供する。一態様において、この抗体は、SEQ ID NO:34、40、46、52または58のアミノ酸配列を含むHVR-H3を含む。別の態様において、この抗体は、SEQ ID NO:34、40、46、52または58のアミノ酸配列を含むHVR-H3およびSEQ ID NO:37、43、49、55または61のアミノ酸配列を含むHVR-L3を含む。さらなる態様において、この抗体は、SEQ ID NO:34、40、46、52または58のアミノ酸配列を含むHVR-H3、SEQ ID NO:37、43、49、55または61のアミノ酸配列を含むHVR-L3およびSEQ ID NO:33、39、45、51または57のアミノ酸配列を含むHVR-H2を含む。さらなる態様において、この抗体は、（a）SEQ ID NO:32、38、44、50または56のアミノ酸配列を含むHVR-H1；（b）SEQ ID NO:33、39、45、51または57のアミノ酸配列を含むHVR-H2；および（c）SEQ ID NO:34、40、46、52または58のアミノ酸配列を含むHVR-H3を含む。
【０１４３】
別の局面において、本発明は、（a）SEQ ID NO:35、41、47、53または59のアミノ酸配列を含むHVR-L1；（b）SEQ ID NO:36、42、48、54または60のアミノ酸配列を含むHVR-L2；および（c）SEQ ID NO:37、43、49、55または61のアミノ酸配列を含むHVR-L3から選択される少なくとも1つ、少なくとも2つ、または3つすべてのVL HVR配列を含む抗C1s抗体を提供する。一態様において、この抗体は、（a）SEQ ID NO:35、41、47、53または59のアミノ酸配列を含むHVR-L1；（b）SEQ ID NO:36、42、48、54または60のアミノ酸配列を含むHVR-L2；および（c）SEQ ID NO:37、43、49、55または61のアミノ酸配列を含むHVR-L3を含む。
【０１４４】

別の局面において、本発明の抗C1s抗体は、（a）（i）SEQ ID NO:32、38、44、50または56のアミノ酸配列を含むHVR-H1；（ii）SEQ ID NO:33、39、45、51または57のアミノ酸配列を含むHVR-H2；および（iii）SEQ ID NO:34、40、46、52または58のアミノ酸配列を含むHVR-H3から選択される少なくとも1つ、少なくとも2つ、または3つすべてのVH HVR配列を含むVHドメイン；ならびに（b）（i）SEQ ID NO:35、41、47、53または59のアミノ酸配列を含むHVR-L1；（ii）SEQ ID NO:36、42、48、54または60のアミノ酸配列を含むHVR-L2；および（c）SEQ ID NO:37、43、49、55または61のアミノ酸配列を含むHVR-L3から選択される少なくとも1つ、少なくとも2つ、または3つすべてのVL HVR配列を含むVLドメインを含む。

【０１４５】

いくつかの態様において、SEQ ID No:19、20、21、23または24のVH配列およびSEQ ID NO:26、27、28、30または31のVL配列を含む抗体にアミノ酸改変を導入することによって調製される抗C1s抗体変異体が提供される。

【０１４６】

いくつかの態様において、本発明の抗C1s抗体は、以下のKabatナンバリングシステムでの位置のうちの1つまたは複数にヒスチジンを含む：

重鎖：H26、H27、H28、H29、H30、H31、H32、H33、H34、H35、H50、H51、H52、H52a、H53、H54、H55、H57、H58、H59、H60、H61、H62、H63、H64、H65、H93、H94、H95、H96、H97、H98、H99、H100、H100a、H101、およびH102；ならびに

軽鎖：L24、L25、L26、L27、L27a、L28、L29、L30、L31、L32、L33、L50、L51、L52、L53、L54、L55、L56、L91、L92、L93、L94、L95、L95a、L96、およびL97。

【０１４７】

いくつかの態様において、本発明の抗C1s抗体は、以下のKabatナンバリングシステムでの位置から選択される位置における1つまたは複数のアミノ酸残基に対して置換された少なくとも1つのヒスチジンを含む：

重鎖：H26、H27、H28、H29、H30、H31、H32、H33、H34、H35、H50、H51、H52、H52a、H53、H54、H55、H57、H58、H59、H60、H61、H62、H63、H64、H65、H93、H94、H95、H96、H97、H98、H99、H100、H100a、H101、およびH102；ならびに

軽鎖：L24、L25、L26、L27、L27a、L28、L29、L30、L31、L32、L33、L50、L51、L52、L53、L54、L55、L56、L91、L92、L93、L94、L95、L95a、L96、およびL97。

【０１４８】

上記態様のいずれかにおいて、抗C1s抗体はヒト化抗体である。一態様において、抗C1s抗体は、上記態様のいずれかのHVRを含み、さらに、アクセプター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。別の態様において、抗C1s抗体は、上記態様のいずれかのHVRを含み、さらに、FR配列を含むVHまたはVLを含む。さらなる態様において、本発明の抗C1s抗体は、以下の重鎖または軽鎖可変ドメインFR配列を含む。

【０１４９】

別の局面において、抗C1s抗体は、SEQ ID NO:19、20、21、23または24のアミノ酸配列に対して少なくとも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。特定の態様において、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、参照配列に対する置換（例えば、保存的置換）、挿入または欠失を含むが、その配列を含む抗C1s抗体は、C1sに結合する能力を保持している。特定の態様において、SEQ ID NO:19、20、21、23または24において合計1～10個のアミノ酸が置換、挿入および/または欠失されている。特定の態様において、置

換、挿入または欠失は、HVRの外側の領域（すなわち、FR）において生じる。任意で、抗C1s抗体は、SEQ ID NO:19、20、21、23または24のVH配列を、当該配列の翻訳後修飾を含んだものも含めて、含む。特定の態様において、当該VHは、（a）SEQ ID NO:32、38、44、50または56のアミノ酸配列を含むHVR-H1、（b）SEQ ID NO:33、39、45、51または57のアミノ酸配列を含むHVR-H2、および（c）SEQ ID NO:34、40、46、52または58のアミノ酸配列を含むHVR-H3から選択される1つ、2つまたは3つのHVRを含む。翻訳後修飾は、重鎖または軽鎖のN末端のグルタミンまたはグルタミン酸のピログルタミル化によるピログルタミン酸への修飾を含むが、これに限定されない。

【０１５０】

別の局面において、SEQ ID NO:26、27、28、30または31のアミノ酸配列に対して少なくとも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C1s抗体が提供される。特定の態様において、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、参照配列に対する置換（例えば、保存的置換）、挿入または欠失を含むが、その配列を含む抗C1s抗体は、C1sに結合する能力を保持している。特定の態様において、SEQ ID NO:26、27、28、30または31において合計1～10個のアミノ酸が置換、挿入および/または欠失されている。特定の態様において、置換、挿入または欠失は、HVRの外側の領域（すなわち、FR）において生じる。任意で、抗C1s抗体は、SEQ ID NO:26、27、28、30または31のVL配列を、当該配列の翻訳後修飾を含んだものも含めて、含む。特定の態様において、当該VLは、（a）SEQ ID NO:35、41、47、53または59のアミノ酸配列を含むHVR-L1、（b）SEQ ID NO:36、42、48、54または60のアミノ酸配列を含むHVR-L2、および（c）SEQ ID NO:37、43、49、55または61のアミノ酸配列を含むHVR-L3から選択される1つ、2つまたは3つのHVRを含む。翻訳後修飾は、重鎖または軽鎖のN末端のグルタミンまたはグルタミン酸のピログルタミル化によるピログルタミン酸への修飾を含むが、これに限定されない。

【０１５１】

別の局面において、上記態様のいずれかのVHおよび上記態様のいずれかのVLを含む抗C1s抗体が提供される。一態様において、この抗体は、それらの配列の翻訳後修飾を含む、それぞれSEQ ID NO:19およびSEQ ID NO:26のVH配列およびVL配列を含む。翻訳後修飾は、重鎖または軽鎖のN末端のグルタミンまたはグルタミン酸のピログルタミル化によるピログルタミン酸への修飾を含むがこれに限定されない。一態様において、この抗体は、それらの配列の翻訳後修飾を含む、それぞれSEQ ID NO:20およびSEQ ID NO:27のVH配列およびVL配列を含む。翻訳後修飾は、重鎖または軽鎖のN末端のグルタミンまたはグルタミン酸のピログルタミル化によるピログルタミン酸への修飾を含むがこれに限定されない。一態様において、この抗体は、それらの配列の翻訳後修飾を含む、それぞれSEQ ID NO:21およびSEQ ID NO:28のVH配列およびVL配列を含む。翻訳後修飾は、重鎖または軽鎖のN末端のグルタミンまたはグルタミン酸のピログルタミル化によるピログルタミン酸への修飾を含むがこれに限定されない。一態様において、この抗体は、それらの配列の翻訳後修飾を含む、それぞれSEQ ID NO:23およびSEQ ID NO:30のVH配列およびVL配列を含む。翻訳後修飾は、重鎖または軽鎖のN末端のグルタミンまたはグルタミン酸のピログルタミル化によるピログルタミン酸への修飾を含むがこれに限定されない。一態様において、この抗体は、それらの配列の翻訳後修飾を含む、それぞれSEQ ID NO:24およびSEQ ID NO:31のVH配列およびVL配列を含む。翻訳後修飾は、重鎖または軽鎖のN末端のグルタミンまたはグルタミン酸のピログルタミル化によるピログルタミン酸への修飾を含むがこれに限定されない。

【０１５２】

さらなる局面において、本発明は、本明細書で提供される抗C1s抗体と同じエピトープに結合する抗体を提供する。好ましい局面において、この抗体は、本明細書で提供される抗C1s抗体と同じエピトープに特異的に結合する。例えば、特定の態様において、

1）SEQ ID NO:32のHVR-H1配列、SEQ ID NO:33のHVR-H2配列、SEQ ID NO:34の

HVR-H3配列、SEQ ID NO:35のHVR-L1配列、SEQ ID NO:36のHVR-L2配列およびSEQ ID NO:37のHVR-L3配列を含む抗体、
2）SEQ ID NO:38のHVR-H1配列、SEQ ID NO:39のHVR-H2配列、SEQ ID NO:40のHVR-H3配列、SEQ ID NO:41のHVR-L1配列、SEQ ID NO:42のHVR-L2配列およびSEQ ID NO:43のHVR-L3配列を含む抗体、
3）SEQ ID NO:44のHVR-H1配列、SEQ ID NO:45のHVR-H2配列、SEQ ID NO:46のHVR-H3配列、SEQ ID NO:47のHVR-L1配列、SEQ ID NO:48のHVR-L2配列およびSEQ ID NO:49のHVR-L3配列を含む抗体、
4）SEQ ID NO:50のHVR-H1配列、SEQ ID NO:51のHVR-H2配列、SEQ ID NO:52のHVR-H3配列、SEQ ID NO:53のHVR-L1配列、SEQ ID NO:54のHVR-L2配列およびSEQ ID NO:55のHVR-L3配列を含む抗体、ならびに
5）SEQ ID NO:56のHVR-H1配列、SEQ ID NO:57のHVR-H2配列、SEQ ID NO:58のHVR-H3配列、SEQ ID NO:59のHVR-L1配列、SEQ ID NO:60のHVR-L2配列およびSEQ ID NO:61のHVR-L3配列を含む抗体、
からなる群より選択される抗体と同じエピトープに（特異的に）結合する抗体が提供される。

【０１５３】

いくつかの態様において、本発明の単離された抗C1s抗体は、C1sへの結合に関して、以下の1）～5）からなる群より選択される抗体と競合する。いくつかの態様において、本発明の単離された抗C1s抗体は、中性pHにおいて、C1sへの結合に関して、以下の1）～5）からなる群より選択される抗体と競合する：
1）SEQ ID NO:32のHVR-H1配列、SEQ ID NO:33のHVR-H2配列、SEQ ID NO:34のHVR-H3配列、SEQ ID NO:35のHVR-L1配列、SEQ ID NO:36のHVR-L2配列およびSEQ ID NO:37のHVR-L3配列を含む抗体、
2）SEQ ID NO:38のHVR-H1配列、SEQ ID NO:39のHVR-H2配列、SEQ ID NO:40のHVR-H3配列、SEQ ID NO:41のHVR-L1配列、SEQ ID NO:42のHVR-L2配列およびSEQ ID NO:43のHVR-L3配列を含む抗体、
3）SEQ ID NO:44のHVR-H1配列、SEQ ID NO:45のHVR-H2配列、SEQ ID NO:46のHVR-H3配列、SEQ ID NO:47のHVR-L1配列、SEQ ID NO:48のHVR-L2配列およびSEQ ID NO:49のHVR-L3配列を含む抗体、
4）SEQ ID NO:50のHVR-H1配列、SEQ ID NO:51のHVR-H2配列、SEQ ID NO:52のHVR-H3配列、SEQ ID NO:53のHVR-L1配列、SEQ ID NO:54のHVR-L2配列およびSEQ ID NO:55のHVR-L3配列を含む抗体、ならびに
5）SEQ ID NO:56のHVR-H1配列、SEQ ID NO:57のHVR-H2配列、SEQ ID NO:58のHVR-H3配列、SEQ ID NO:59のHVR-L1配列、SEQ ID NO:60のHVR-L2配列およびSEQ ID NO:61のHVR-L3配列を含む抗体。

【０１５４】

一局面において、本発明は、（a）SEQ ID NO:119、120、121、122、123、124、125または126のアミノ酸配列を含むHVR-H1、（b）SEQ ID NO:127、128、129、130、131、132、133または134のアミノ酸配列を含むHVR-H2、（c）SEQ ID NO:135、136、137、138、139、140、141または142のアミノ酸配列を含むHVR-H3、（d）SEQ ID NO:143、144、145、146、147、148、149または150のアミノ酸配列を含むHVR-L1、（e）SEQ ID NO:151、152、153、154、155、156、157または158のアミノ酸配列を含むHVR-L2、および（f）SEQ ID NO:159、160、161、162、163、164、165または166のアミノ酸配列を含むHVR-L3から選択される少なくとも1つ、2つ、3つ、4つ、5つまたは6つのHVRを含む抗C1r抗体を提供する。

【０１５５】

一局面において、本発明は、（a）SEQ ID NO:119、120、121、122、123、124、125または126のアミノ酸配列を含むHVR-H1、（b）SEQ ID NO:127、128、129、130、131、132、133または134のアミノ酸配列を含むHVR-H2、および（c）SEQ ID N

O:135、136、137、138、139、140、141または142のアミノ酸配列を含むHVR-H3から選択される少なくとも1つ、少なくとも2つまたは3つすべてのVH HVR配列を含む抗C1r抗体を提供する。一態様において、この抗体は、SEQ ID NO:135、136、137、138、139、140、141または142のアミノ酸配列を含むHVR-H3を含む。別の態様において、この抗体は、SEQ ID NO:135、136、137、138、139、140、141または142のアミノ酸配列を含むHVR-H3およびSEQ ID NO:159、160、161、162、163、164、165または166のアミノ酸配列を含むHVR-L3を含む。さらなる態様において、この抗体は、SEQ ID NO:135、136、137、138、139、140、141または142のアミノ酸配列を含むHVR-H3、SEQ ID NO:159、160、161、162、163、164、165または166のアミノ酸配列を含むHVR-L3およびSEQ ID NO:127、128、129、130、131、132、133または134のアミノ酸配列を含むHVR-H2を含む。さらなる態様において、この抗体は、（a）SEQ ID NO:119、120、121、122、123、124、125または126のアミノ酸配列を含むHVR-H1、（b）SEQ ID NO:127、128、129、130、131、132、133または134のアミノ酸配列を含むHVR-H2、および（c）SEQ ID NO:135、136、137、138、139、140、141または142のアミノ酸配列を含むHVR-H3を含む。

【０１５６】

別の局面において、本発明は、（a）SEQ ID NO:143、144、145、146、147、148、149または150のアミノ酸配列を含むHVR-L1、（b）SEQ ID NO:151、152、153、154、155、156、157または158のアミノ酸配列を含むHVR-L2、および（c）SEQ ID NO:159、160、161、162、163、164、165または166のアミノ酸配列を含むHVR-L3から選択される少なくとも1つ、少なくとも2つ、または3つすべてのVL HVR配列を含む抗C1r抗体を提供する。一態様において、この抗体は、（a）SEQ ID NO:143、144、145、146、147、148、149または150のアミノ酸配列を含むHVR-L1、（b）SEQ ID NO:151、152、153、154、155、156、157または158のアミノ酸配列を含むHVR-L2、および（c）SEQ ID NO:159、160、161、162、163、164、165または166のアミノ酸配列を含むHVR-L3を含む。

【０１５７】

別の局面において、本発明の抗C1r抗体は、（a）（i）SEQ ID NO:119、120、121、122、123、124、125または126のアミノ酸配列を含むHVR-H1、（ii）SEQ ID NO:127、128、129、130、131、132、133または134のアミノ酸配列を含むHVR-H2、および（iii）SEQ ID NO:135、136、137、138、139、140、141または142のアミノ酸配列を含むHVR-H3から選択される少なくとも1つ、少なくとも2つまたは3つすべてのVH HVR配列を含むVHドメイン、ならびに（b）（i）SEQ ID NO:143、144、145、146、147、148、149または150のアミノ酸配列を含むHVR-L1、（ii）SEQ ID NO:151、152、153、154、155、156、157または158のアミノ酸配列を含むHVR-L2、および（c）SEQ ID NO:159、160、161、162、163、164、165または166のアミノ酸配列を含むHVR-L3から選択される少なくとも1つ、少なくとも2つ、または3つすべてのVL HVR配列を含むVLドメインを含む。

【０１５８】

いくつかの態様において、SEQ ID No:103、104、105、106、107、108、109または110のVH配列およびSEQ ID NO:111、112、113、114、115、116、117または118のVL配列を含む抗体にアミノ酸改変を導入することによって調製される抗C1r抗体変異体が提供される。

【０１５９】

いくつかの態様において、本発明の抗C1r抗体は、以下のKabatナンバリングシステムでの位置：

重鎖：H26、H27、H28、H29、H30、H31、H32、H33、H34、H35、H50、H51、H52、H52a、H53、H54、H55、H57、H58、H59、H60、H61、H62、H63、H64、H65、H93、H94、H95、H96、H97、H98、H99、H100、H100a、H101およびH102；ならびに

軽鎖：L24、L25、L26、L27、L27a、L28、L29、L30、L31、L32、L33、L50、L51、L52、L53、L54、L55、L56、L91、L92、L93、L94、L95、L95a、L96およびL97
のうちの1つまたは複数にヒスチジンを含む。

【０１６０】

いくつかの態様において、本発明の抗C1r抗体は、以下のKabatナンバリングシステムでの位置：
重鎖：H26、H27、H28、H29、H30、H31、H32、H33、H34、H35、H50、H51、H52、H52a、H53、H54、H55、H57、H58、H59、H60、H61、H62、H63、H64、H65、H93、H94、H95、H96、H97、H98、H99、H100、H100a、H101およびH102；ならびに
軽鎖：L24、L25、L26、L27、L27a、L28、L29、L30、L31、L32、L33、L50、L51、L52、L53、L54、L55、L56、L91、L92、L93、L94、L95、L95a、L96およびL97
から選択される位置における1つまたは複数のアミノ酸残基に対して置換された少なくとも1つのヒスチジンを含む。

【０１６１】

上記態様のいずれかにおいて、抗C1r抗体は、ヒト化されている。一態様において、抗C1r抗体は、上記態様のいずれかのHVRを含み、さらにアクセプター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。別の態様において、抗C1r抗体は、上記態様のいずれかのHVRを含み、さらにFR配列を含むVHまたはVLを含む。さらなる態様において、本発明の抗C1r抗体は、以下の重鎖または軽鎖可変ドメインFR配列を含む。

【０１６２】

別の局面において、抗C1r抗体は、SEQ ID NO:103、104、105、106、107、108、109または110のアミノ酸配列に対して少なくとも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。特定の態様において、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、参照配列に対して置換（例えば、保存的置換）、挿入または欠失を含むが、その配列を含む抗C1r抗体はC1rに結合する能力を保持している。特定の態様において、SEQ ID NO:103、104、105、106、107、108、109または110において合計1～10個のアミノ酸が置換、挿入および／または欠失されている。特定の態様において、置換、挿入または欠失は、HVRの外側の領域（すなわち、FR）において生じる。任意で、抗C1r抗体は、その配列の翻訳後修飾を含む、SEQ ID NO:103、104、105、106、107、108、109または110のVH配列を含む。特定の態様において、VHは、（a）SEQ ID NO:119、120、121、122、123、124、125または126のアミノ酸配列を含むHVR-H1、（b）SEQ ID NO:127、128、129、130、131、132、133または134のアミノ酸配列を含むHVR-H2、および（c）SEQ ID NO:135、136、137、138、139、140、141または142のアミノ酸配列を含むHVR-H3から選択される1つ、2つまたは3つのHVRを含む。翻訳後修飾は、重鎖または軽鎖のN末端のグルタミンまたはグルタミン酸のピログルタミル化によるピログルタミン酸への修飾を含むがこれに限定されない。

【０１６３】

別の局面において、SEQ ID NO:111、112、113、114、115、116、117または118のアミノ酸配列に対して少なくとも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C1r抗体が提供される。特定の態様において、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、参照配列に対して置換（例えば、保存的置換）、挿入または欠失を含むが、その配列を含む抗C1r抗体はC1rに結合する能力を保持している。特定の態様において、SEQ ID NO:111、112、113

、114、115、116、117または118において合計1～10個のアミノ酸が置換、挿入および／または欠失されている。特定の態様において、置換、挿入または欠失は、HVRの外側の領域（すなわち、FR）において生じる。任意で、抗C1r抗体は、その配列の翻訳後修飾を含む、SEQ ID NO:111、112、113、114、115、116、117または118のVL配列を含む。特定の態様において、VLは、（a）SEQ ID NO:143、144、145、146、147、148、149または150のアミノ酸配列を含むHVR-L1、（b）SEQ ID NO:151、152、153、154、155、156、157または158のアミノ酸配列を含むHVR-L2、および（c）SEQ ID NO:159、160、161、162、163、164、165または166のアミノ酸配列を含むHVR-L3から選択される1つ、2つまたは3つのHVRを含む。翻訳後修飾は、重鎖または軽鎖のN末端のグルタミンまたはグルタミン酸のピログルタミル化によるピログルタミン酸への修飾を含むがこれに限定されない。

【０１６４】

別の局面において、上記態様のいずれかのVHおよび上記態様のいずれかのVLを含む抗C1r抗体が提供される。一態様において、この抗体は、それらの配列の翻訳後修飾を含む、それぞれSEQ ID NO:103およびSEQ ID NO:111のVH配列およびVL配列を含む。翻訳後修飾は、重鎖または軽鎖のN末端のグルタミンまたはグルタミン酸のピログルタミル化によるピログルタミン酸への修飾を含むがこれに限定されない。一態様において、この抗体は、それらの配列の翻訳後修飾を含む、それぞれSEQ ID NO:104およびSEQ ID NO:112のVH配列およびVL配列を含む。翻訳後修飾は、重鎖または軽鎖のN末端のグルタミンまたはグルタミン酸のピログルタミル化によるピログルタミン酸への修飾を含むがこれに限定されない。一態様において、この抗体は、それらの配列の翻訳後修飾を含む、それぞれSEQ ID NO:105およびSEQ ID NO:113のVH配列およびVL配列を含む。翻訳後修飾は、重鎖または軽鎖のN末端のグルタミンまたはグルタミン酸のピログルタミル化によるピログルタミン酸への修飾を含むがこれに限定されない。一態様において、この抗体は、それらの配列の翻訳後修飾を含む、それぞれSEQ ID NO:106およびSEQ ID NO:114のVH配列およびVL配列を含む。翻訳後修飾は、重鎖または軽鎖のN末端のグルタミンまたはグルタミン酸のピログルタミル化によるピログルタミン酸への修飾を含むがこれに限定されない。一態様において、この抗体は、それらの配列の翻訳後修飾を含む、それぞれSEQ ID NO:107およびSEQ ID NO:115のVH配列およびVL配列を含む。翻訳後修飾は、重鎖または軽鎖のN末端のグルタミンまたはグルタミン酸のピログルタミル化によるピログルタミン酸への修飾を含むがこれに限定されない。一態様において、この抗体は、それらの配列の翻訳後修飾を含む、それぞれSEQ ID NO:108およびSEQ ID NO:116のVH配列およびVL配列を含む。翻訳後修飾は、重鎖または軽鎖のN末端のグルタミンまたはグルタミン酸のピログルタミル化によるピログルタミン酸への修飾を含むがこれに限定されない。一態様において、この抗体は、それらの配列の翻訳後修飾を含む、それぞれSEQ ID NO:109およびSEQ ID NO:117のVH配列およびVL配列を含む。翻訳後修飾は、重鎖または軽鎖のN末端のグルタミンまたはグルタミン酸のピログルタミル化によるピログルタミン酸への修飾を含むがこれに限定されない。一態様において、この抗体は、それらの配列の翻訳後修飾を含む、それぞれSEQ ID NO:110およびSEQ ID NO:118のVH配列およびVL配列を含む。翻訳後修飾は、重鎖または軽鎖のN末端のグルタミンまたはグルタミン酸のピログルタミル化によるピログルタミン酸への修飾を含むがこれに限定されない。

【０１６５】

さらなる局面において、本発明は、本明細書で提供される抗C1r抗体と同じエピトープに結合する抗体を提供する。好ましい局面において、この抗体は、本明細書で提供される抗C1r抗体と同じエピトープに特異的に結合する。例えば、特定の態様において、

6）SEQ ID NO:119のHVR-H1配列、SEQ ID NO:127のHVR-H2配列、SEQ ID NO:135のHVR-H3配列、SEQ ID NO:143のHVR-L1配列、SEQ ID NO:151のHVR-L2配列およびSEQ ID NO:159のHVR-L3配列を含む抗体、

7）SEQ ID NO:120のHVR-H1配列、SEQ ID NO:128のHVR-H2配列、SEQ ID NO:136のHVR-H3配列、SEQ ID NO:144のHVR-L1配列、SEQ ID NO:152のHVR-L2配列お

およびSEQ ID NO:160のHVR-L3配列を含む抗体、
8）SEQ ID NO:121のHVR-H1配列、SEQ ID NO:129のHVR-H2配列、SEQ ID NO:137のHVR-H3配列、SEQ ID NO:145のHVR-L1配列、SEQ ID NO:153のHVR-L2配列およびSEQ ID NO:161のHVR-L3配列を含む抗体、
9）SEQ ID NO:122のHVR-H1配列、SEQ ID NO:130のHVR-H2配列、SEQ ID NO:138のHVR-H3配列、SEQ ID NO:146のHVR-L1配列、SEQ ID NO:154のHVR-L2配列およびSEQ ID NO:162のHVR-L3配列を含む抗体、
10）SEQ ID NO:123のHVR-H1配列、SEQ ID NO:131のHVR-H2配列、SEQ ID NO:139のHVR-H3配列、SEQ ID NO:147のHVR-L1配列、SEQ ID NO:155のHVR-L2配列およびSEQ ID NO:163のHVR-L3配列を含む抗体、
11）SEQ ID NO:124のHVR-H1配列、SEQ ID NO:132のHVR-H2配列、SEQ ID NO:140のHVR-H3配列、SEQ ID NO:148のHVR-L1配列、SEQ ID NO:156のHVR-L2配列およびSEQ ID NO:164のHVR-L3配列を含む抗体、
12）SEQ ID NO:125のHVR-H1配列、SEQ ID NO:133のHVR-H2配列、SEQ ID NO:141のHVR-H3配列、SEQ ID NO:149のHVR-L1配列、SEQ ID NO:157のHVR-L2配列およびSEQ ID NO:165のHVR-L3配列を含む抗体、ならびに
13）SEQ ID NO:126のHVR-H1配列、SEQ ID NO:134のHVR-H2配列、SEQ ID NO:142のHVR-H3配列、SEQ ID NO:150のHVR-L1配列、SEQ ID NO:158のHVR-L2配列およびSEQ ID NO:166のHVR-L3配列を含む抗体、
からなる群より選択される抗体と同じエピトープに（特異的に）結合する抗体が提供される。

【０１６６】

いくつかの態様において、本発明の単離された抗C1r抗体は、C1rへの結合に関して、以下の6）～13）からなる群より選択される抗体と競合する。いくつかの態様において、本発明の単離された抗C1r抗体は、中性pHにおいて、C1rへの結合に関して、以下の6）～13）からなる群より選択される抗体と競合する：
6）SEQ ID NO:119のHVR-H1配列、SEQ ID NO:127のHVR-H2配列、SEQ ID NO:135のHVR-H3配列、SEQ ID NO:143のHVR-L1配列、SEQ ID NO:151のHVR-L2配列およびSEQ ID NO:159のHVR-L3配列を含む抗体、
7）SEQ ID NO:120のHVR-H1配列、SEQ ID NO:128のHVR-H2配列、SEQ ID NO:136のHVR-H3配列、SEQ ID NO:144のHVR-L1配列、SEQ ID NO:152のHVR-L2配列およびSEQ ID NO:160のHVR-L3配列を含む抗体、
8）SEQ ID NO:121のHVR-H1配列、SEQ ID NO:129のHVR-H2配列、SEQ ID NO:137のHVR-H3配列、SEQ ID NO:145のHVR-L1配列、SEQ ID NO:153のHVR-L2配列およびSEQ ID NO:161のHVR-L3配列を含む抗体、
9）SEQ ID NO:122のHVR-H1配列、SEQ ID NO:130のHVR-H2配列、SEQ ID NO:138のHVR-H3配列、SEQ ID NO:146のHVR-L1配列、SEQ ID NO:154のHVR-L2配列およびSEQ ID NO:162のHVR-L3配列を含む抗体、
10）SEQ ID NO:123のHVR-H1配列、SEQ ID NO:131のHVR-H2配列、SEQ ID NO:139のHVR-H3配列、SEQ ID NO:147のHVR-L1配列、SEQ ID NO:155のHVR-L2配列およびSEQ ID NO:163のHVR-L3配列を含む抗体、
11）SEQ ID NO:124のHVR-H1配列、SEQ ID NO:132のHVR-H2配列、SEQ ID NO:140のHVR-H3配列、SEQ ID NO:148のHVR-L1配列、SEQ ID NO:156のHVR-L2配列およびSEQ ID NO:164のHVR-L3配列を含む抗体、
12）SEQ ID NO:125のHVR-H1配列、SEQ ID NO:133のHVR-H2配列、SEQ ID NO:141のHVR-H3配列、SEQ ID NO:149のHVR-L1配列、SEQ ID NO:157のHVR-L2配列およびSEQ ID NO:165のHVR-L3配列を含む抗体、ならびに
13）SEQ ID NO:126のHVR-H1配列、SEQ ID NO:134のHVR-H2配列、SEQ ID NO:142のHVR-H3配列、SEQ ID NO:150のHVR-L1配列、SEQ ID NO:158のHVR-L2配列およびSEQ ID NO:166のHVR-L3配列を含む抗体。

【０１６７】
一局面において、本開示は、補体成分1s（C1s）のCUB1、EGFおよびCUB2からなるCUB1-EGF-CUB2ドメインを含む領域内のエピトープに特異的に結合するpH依存的結合性を有する単離されたヒト化モノクローナル抗体を提供する。いくつかの態様において、本開示の単離された抗C1s抗体が結合するエピトープは、C1sのベータドメインに位置しないエピトープである。いくつかの態様において、本開示の単離された抗C1s抗体が結合するエピトープは、C1sのアルファドメインまたはC1sのガンマドメインに位置するエピトープである。いくつかの態様において、本開示の単離された抗C1s抗体が結合するエピトープは、線状エピトープである。いくつかの態様において、本開示の単離された抗C1s抗体が結合するエピトープは、補体C1sタンパク質のアミノ酸16～291番目、SEQ ID NO:1に示される補体C1sタンパク質のアミノ酸16～172番目、SEQ ID NO:1に示される補体C1sタンパク質のアミノ酸16～210番目、SEQ ID NO:1に示される補体C1sタンパク質のアミノ酸16～111番目、SEQ ID NO:1に示される補体C1sタンパク質のアミノ酸112～210番目、SEQ ID NO:1に示される補体C1sタンパク質のアミノ酸131～172番目、またはSEQ ID NO:1に示される補体C1sタンパク質のアミノ酸16～130番目の範囲内のエピトープである。いくつかの態様において、C1sの上記エピトープは、ヒトC1sのエピトープである。いくつかの態様において、本発明の単離された抗C1s抗体は、活性化したC1sタンパク質および不活性形態のC1sの両方に結合することができる。
【０１６８】
いくつかの態様において、本開示は、補体成分1r（C1r）のCUB1、EGFおよびCUB2からなるCUB1-EGF-CUB2ドメインを含む領域内のエピトープに特異的に結合する単離された抗C1r抗体を提供する。いくつかの例において、本開示の単離された抗C1r抗体が結合するエピトープは、線状エピトープまたは立体構造エピトープである。いくつかの態様において、C1rの上記エピトープは、ヒトC1rのエピトープである。
【０１６９】
本発明のさらなる局面において、上記態様のいずれかによる抗C1s抗体は、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。一態様において、抗C1s抗体は、例えば、Fv、Fab、Fab'、scFv、ダイアボディ、または$F(ab')_2$断片などの、抗体断片である。別の態様において、抗体は、例えば、完全IgG1、IgG2、IgG3もしくはIgG4抗体、または本明細書で定義された他の抗体クラスまたはアイソタイプの、全長抗体である。
【０１７０】
さらなる局面において、上記態様のいずれかによる抗C1s抗体は、単独または組み合わせで、以下の項目1～7に記載の任意の特徴を取り込んでもよい。
【０１７１】
１．抗体のアフィニティ
特定の態様において、本明細書で提供される抗体は、1μM以下、100nM以下、10nM以下、1nM以下、0.1nM以下、0.01nM以下、または0.001nM以下（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）の解離定数（KdまたはKD）を有する。
【０１７２】
一態様において、Kdは、放射性標識抗原結合測定法（radiolabeled antigen binding assay: RIA）によって測定される。一態様において、RIAは、目的の抗体のFabバージョンおよびその抗原を用いて実施される。例えば、抗原に対するFabの溶液中結合アフィニティは、非標識抗原の漸増量系列の存在下で最小濃度の（^{125}I）標識抗原によりFabを平衡化させ、次いで結合した抗原を抗Fab抗体でコーティングされたプレートにより捕捉することによって測定される。（例えば、Chen et al., J. Mol. Biol. 293:865-881(1999)を参照のこと）。測定条件を構築するために、MICROTITER（登録商標）マルチウェルプレート（Thermo Scientific）を50mM炭酸ナトリウム（pH9.6）中5μg/mlの捕捉用抗Fab抗体（Cappel Labs）で一晩コーティングし、続いて室温（およそ23℃）で2～5時間、PBS中2%（w/v）ウシ血清アルブミンでブロッキングする。非吸着プレート（Nunc #2

69620) において、100 pMまたは26 pMの [^{125}I]-抗原を、（例えば、Presta et al., Cancer Res. 57:4593-4599 (1997) における抗VEGF抗体、Fab-12の評価と同じように）目的のFabの段階希釈物と混合する。次いで、目的のFabを一晩インキュベートするが、このインキュベーションは、平衡が確実に達成されるよう、より長時間（例えば、約65時間）継続され得る。その後、混合物を、室温でのインキュベーション（例えば、1時間）のために捕捉プレートに移す。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回洗浄する。プレートが乾燥したら、150μl/ウェルのシンチラント（MICROSCINT-20（商標）、Packard）を添加し、TOPCOUNT（商標）ガンマカウンター (Packard) においてプレートを10分間カウントする。最大結合の20%以下を与える各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択する。

【０１７３】

別の態様によれば、Kdは、BIACORE（登録商標）表面プラズモン共鳴アッセイを用いて測定される。例えば、BIACORE（登録商標）-2000またはBIACORE（登録商標）-3000 (GE Healthcare) を用いる測定法が、およそ10反応単位 (response unit: RU) の抗原が固定されたCM5チップを用いて25℃で実施される。一態様において、カルボキシメチル化デキストランバイオセンサーチップ (CM5、GE Healthcare) は、供給元の指示にしたがいN-エチル-N'- (3-ジメチルアミノプロピル)-カルボジイミドヒドロクロリド (EDC) およびN-ヒドロキシスクシンイミド (NHS) を用いて活性化される。抗原は、およそ10反応単位 (RU) のタンパク質の結合を達成するよう、5マイクロリットル(μl)/分の流速で注入される前に、10mM酢酸ナトリウム、pH4.8を用いて5マイクログラム(μg)/ml（およそ0.2μM）に希釈される。抗原の注入後、未反応基をブロックするために1Mエタノールアミンが注入される。キネティクスの測定のために、25℃、およそ25μl/分の流速で、0.05%ポリソルベート20（TWEEN-20（商標））界面活性剤含有PBS (PBST) 中のFabの2倍段階希釈物 (0.78nM～500nM) が注入される。結合速度 (k_{on}) および解離速度 (k_{off}) は、単純な1対1ラングミュア結合モデル（BIACORE（登録商標）評価ソフトウェアバージョン3.2）を用いて、結合および解離のセンサーグラムを同時にフィッティングすることによって計算される。平衡解離定数 (Kd) は、k_{off}/k_{on}比として計算される。例えば、Chen et al., J. Mol. Biol. 293:865-881 (1999) を参照のこと。上記の表面プラズモン共鳴アッセイによってオン速度が$10^6 M^{-1}s^{-1}$を超える場合、オン速度は、分光計（例えばストップフロー式分光光度計 (Aviv Instruments) または撹拌キュベットを用いる8000シリーズのSLM-AMINCO（商標）分光光度計 (ThermoSpectronic)）において測定される、漸増濃度の抗原の存在下でのPBS、pH7.2中20nMの抗抗原抗体（Fab形態）の25℃での蛍光発光強度（励起=295nm；発光=340nm、バンドパス16nm）の増加または減少を測定する蛍光消光技術を用いることによって決定され得る。

【０１７４】

いくつかの態様において、pH 7.4およびpH 5.8における本発明の各ヒスチジン置換変異体の結合アフィニティは、37℃でBiacore（登録商標）T200機器（GE Healthcare）を用いて決定される。アミンカップリングキット（GE Healthcare）を用いて、CM4センサーチップのすべてのフローセル上に組み換えプロテインA/G（Pierce）が固定化され得る。抗体およびアナライトは、7(+)緩衝液（20 mM ACES、150 mM NaCl、1.2 mM $CaCl_2$、0.05% Tween 20、0.005% NaN_3、pH 7.4）、5(+)緩衝液（20 mM ACES、150 mM NaCl、1.2 mM $CaCl_2$、0.05% Tween 20、0.005% NaN_3、pH 5.8）または5(-)緩衝液（20 mM ACES、150 mM NaCl、3μM $CaCl_2$、0.05% Tween 20、0.005% NaN_3、pH 5.8）で調製され得る。各抗体は、プロテインA/Gによってセンサー表面上に捕捉され得る。抗体捕捉量は、200共鳴単位（RU）を目標とされる。調製された50nMの天然型プロ酵素ヒトC1s（CompTech）または組み換えヒトC1sが注入され得、その後に解離され得る。

本発明のBiacoreアッセイの工程の具体例は以下のとおりである。

C1s CUB1-EGF-CUB2結合体の結合アフィニティを、37℃でBiacore（登録商標）T2

00機器（GE Healthcare）を用いて決定する。アミンカップリングキット（GE Healthcare）を用いて、CM4センサーチップのすべてのフローセル上に組み換えプロテインA/G（Pierce）を固定化する。抗体およびアナライトを、7(+)緩衝液（20 mM ACES、150 mM NaCl、1.2 mM $CaCl_2$、0.05% Tween 20、0.005% NaN_3、pH 7.4）で調製する。各抗体を、プロテインA/Gによってセンサー表面上に捕捉する。抗体捕捉量は、100共鳴単位（RU）を目標にする。（単量体として50 nMの）天然型プロ酵素ヒトC1s（Comptech A103）または（単量体として100 nMの）組み換えヒトC1s CCP1-CCP2-SP-Hisを注入し、その後に解離させる。サイクルごとに、10 mMグリシン-HCl pH 1.5を用いてセンサー表面を再生する。C1s CUB1-EGF-CUB2結合体は、天然型プロ酵素ヒトC1sに結合したが、CUB1-EGF-CUB2ドメインを欠く切断型タンパク質である組み換えヒトC1s CCP1-CCP2-SP-Hisには結合しなかったことが判定され得る。

抗体のC1q解離促進機能は、37℃でBIACORE（登録商標）T200機器（GE Healthcare）を用いるC1r2s2捕捉法によって実証される。アミンカップリングキット（GE Healthcare）を用いて、CM4センサーチップのすべてのフローセル上に抗His抗体（GE Healthcare）を固定化する。各抗体、組み換えヒトC1r2s2 Flag/His四量体および天然型ヒトC1q（Comptech A099）を、pH 7.4緩衝液（20 mM ACES、150 mM NaCl、1.2 mM $CaCl_2$、1 mg/mL BSA（IgG非含有）、1 mg/mL CMD、0.05% Tween 20、0.005% NaN_3、pH 7.4）で調製する。最初に、組み換えヒトC1r2s2 Flag/His四量体を、抗His抗体によってセンサー表面上に捕捉する（「hc1r2s2」）。捕捉量は、200共鳴単位（RU）を目標にする。100 nMの天然型ヒトC1qを、200RUの捕捉となるよう注入し（「hc1q」）、その後直ちに500 nMの抗体を10μL/分で120秒間注入する。サイクルごとに、10 mMグリシン-HCl (pH 1.5)を用いてセンサー表面を再生する。C1q解離促進機能を有する抗体は、センサーグラム1と2が交差する時点（「クロスオーバー時点」）の後は、（C1r2s2、C1q、および抗体が存在する）センサーグラム2の共鳴単位が、（C1r2s2、C1q、および緩衝液は存在するが、抗体は存在しない）センサーグラム1の共鳴単位よりも低くなる。クロスオーバー時点は、抗体（Ab）応答（センサーグラム2）から緩衝液応答（センサーグラム1）を差し引くことによって特定され、その差の値が正から負に変わる時点のことをいう。

抗体のC1q解離促進機能は、37℃でBIACORE（登録商標）T200機器（GE Healthcare）を用いるC1q捕捉法によって実証される。各抗体、組み換えヒトC1r2s2 Flag/His四量体およびビオチン化した天然型ヒトC1q（Comptech A099）を、pH 7.4緩衝液（20 mM ACES、150 mM NaCl、1.2 mM $CaCl_2$、1 mg/mL BSA（IgG非含有）、1 mg/mL CMD、0.05% Tween 20、0.005% NaN_3、pH 7.4）で調製する。最初に、ビオチン化天然型ヒトC1qを、CAPセンサーチップ（GE-Healthcare）の1つのフローセル上に捕捉する。捕捉量は、800～1000共鳴単位（RU）の範囲内を目標にする。300 nMの組み換えヒトC1r2s2 Flag/His四量体を注入し、続いて500 nMの抗体を10μL/分で180秒間注入する。サイクルごとに、8Mグアニジン-HClおよび1M NaOHを3対1比で用いてセンサー表面を再生する。C1q解離促進機能を有する抗体は、C1r2s2の解離速度を向上させる、すなわち、抗体の存在下での曲線が、抗体の非存在下での曲線の下になる。

抗体によるC1r2s2へのC1q結合のブロッキングを評価するため、37℃でBIACORE（登録商標）T200機器（GE Healthcare）を用いてブロッキングアッセイを行う。アミンカップリングキット（GE Healthcare）を用いて、CM4センサーチップのすべてのフローセル上に抗His抗体（GE Healthcare）を固定化する。各抗体、組み換えヒトC1r2s2 Flag/His四量体および天然型ヒトC1qを、pH 7.4緩衝液（20 mM ACES、150 mM NaCl、1.2 mM $CaCl_2$、1 mg/mL BSA（IgG非含有）、1 mg/mL CMD、0.05% Tween 20、0.005% NaN_3、pH 7.4）で調製する。最初に、組み換えヒトC1r2s2 Flag/His四量体を、抗His抗体によってセンサー表面上に捕捉する（「hc1r2s2」）。捕捉量は、200共鳴単位（RU）を目標にする。500 nMの抗体変異体を注入し、続いて100 nMの天然型ヒトC1qを注入する（「hc1q」）。サイクルごとに、10 mMグリシン-HCl (pH 1.5)を用いてセンサー表面を再生する。C1qブロッキング機能を有する抗体は、C1r2s2への結合

に関してC1qと競合する抗体である。
いくつかの態様において、必要に応じて、pH 7.4での解離領域の直後にpH 5.8でのさらなる解離領域を組み込む。5(+)緩衝液中でのこの解離速度を、Scrubber 2.0（BioLogic Software）曲線フィッティングソフトウェアを用いてデータを処理しフィッティングさせることによって決定することができる。
【０１７５】
２．抗体断片
特定の態様において、本明細書で提供される抗体は、抗体断片である。抗体断片は、これらに限定されるものではないが、Fab、Fab'、Fab'-SH、$F(ab')_2$、Fv、および scFv断片、ならびに、後述する他の断片を含む。特定の抗体断片についての総説として、Hudson et al., Nat. Med. 9:129-134 (2003) を参照のこと。scFv断片の総説として、例えば、Pluckthun, in The Pharmacology of Monoclonal Antibodies, vol. 113, Rosenburg and Moore eds., (Springer-Verlag, New York), pp.269-315 (1994)；加えて、WO93/16185；ならびに米国特許第5,571,894号および第5,587,458号を参照のこと。サルベージ受容体結合エピトープ残基を含みin vivoにおける半減期の長くなったFabおよび$F(ab')_2$断片についての論説として、米国特許第5,869,046号を参照のこと。
【０１７６】
ダイアボディは、二価または二重特異的であってよい、抗原結合部位を2つ伴う抗体断片である。例えば、EP404,097号; WO1993/01161; Hudson et al., Nat. Med. 9:129-134 (2003); Hollinger et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:6444-6448 (1993) 参照。トリアボディ (triabody) やテトラボディ (tetrabody) も、Hudson et al., Nat. Med. 9:129-134 (2003) に記載されている。
【０１７７】
シングルドメイン抗体は、抗体の重鎖可変ドメインのすべてもしくは一部分、または軽鎖可変ドメインのすべてもしくは一部分を含む、抗体断片である。特定の態様において、シングルドメイン抗体は、ヒトシングル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号参照）。
【０１７８】
抗体断片は、これらに限定されるものではないが、本明細書に記載の、完全抗体のタンパク質分解的消化、組み換え宿主細胞（例えば、大腸菌 (E. coli) またはファージ）による産生を含む、種々の手法により作ることができる。
【０１７９】
３．キメラ抗体およびヒト化抗体
特定の態様において、本明細書で提供される抗体は、キメラ抗体である。特定のキメラ抗体が、例えば、米国特許第4,816,567号；および、Morrison et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 81:6851-6855 (1984) に記載されている。一例では、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、またはサルなど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。さらなる例において、キメラ抗体は、親抗体のものからクラスまたはサブクラスが変更された「クラススイッチ」抗体である。キメラ抗体は、その抗原結合断片も含む。
【０１８０】
特定の態様において、キメラ抗体は、ヒト化抗体である。典型的には、非ヒト抗体は、親非ヒト抗体の特異性およびアフィニティを維持したままでヒトへの免疫原性を低下させるために、ヒト化される。通常、ヒト化抗体は1つまたは複数の可変ドメインを含み、当該可変ドメイン中、HVR（例えばCDR（またはその部分））は非ヒト抗体に由来し、FR（またはその部分）はヒト抗体配列に由来する。ヒト化抗体は、任意で、ヒト定常領域の少なくとも一部分を含む。いくつかの態様において、ヒト化抗体中のいくつかのFR残基は、例えば、抗体の特異性またはアフィニティを回復または改善するために、非ヒト抗体（例えば、HVR残基の由来となった抗体）からの対応する残基で置換されている。
【０１８１】

ヒト化抗体およびその作製方法は、Almagro and Fransson, Front. Biosci. 13:1619-1633 (2008)において総説されており、また、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、第7,527,791号、第6,982,321号、および第7,087,409号；Kashmiri et al., Methods 36:25-34 (2005) (特異性決定領域 (specificity determining region: SDR) グラフティングを記載）；Padlan, Mol. Immunol. 28:489-498 (1991) （リサーフェイシングを記載）； Dall'Acqua et al., Methods 36:43-60 (2005) （FRシャッフリングを記載）；ならびに、Osbourn et al., Methods 36:61-68 (2005) およびKlimka et al., Br. J. Cancer, 83:252-260 (2000) （FRシャッフリングのための「ガイドセレクション」アプローチを記載）において、さらに記載されている。

【０１８２】

ヒト化に使われ得るヒトフレームワーク領域は、これらに限定されるものではないが：「ベストフィット」法（Sims et al., J. Immunol. 151:2296 (1993) 参照）を用い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（Carter et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 89:4285 (1992) および Presta et al., J. Immunol., 151:2623 (1993) 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) 参照）；および、FRライブラリーのスクリーニングに由来するフレームワーク領域（Baca et al., J. Biol. Chem. 272:10678-10684 (1997) および Rosok et al., J. Biol. Chem. 271:22611-22618 (1996) 参照）を含む。

【０１８３】

４．ヒト抗体

特定の態様において、本明細書で提供される抗体は、ヒト抗体である。ヒト抗体は、当該技術分野において知られる種々の手法によって製造され得る。ヒト抗体は、van Dijk and van de Winkel, Curr. Opin. Pharmacol. 5:368-74 (2001) および Lonberg, Curr. Opin. Immunol. 20:450-459 (2008) に、概説されている。

【０１８４】

ヒト抗体は、抗原チャレンジ（負荷）に応答して完全ヒト抗体またはヒト可変領域を伴う完全抗体を産生するように改変されたトランスジェニック動物へ免疫原を投与することにより、調製されてもよい。そのような動物は、典型的にはヒト免疫グロブリン遺伝子座の全部もしくは一部分を含み、ヒト免疫グロブリン遺伝子座の全部もしくは一部分は、内因性の免疫グロブリン遺伝子座を置き換えるか、または、染色体外にもしくは当該動物の染色体内にランダムに取り込まれた状態で存在する。そのようなトランスジェニックマウスにおいて、内因性の免疫グロブリン遺伝子座は、通常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方法の総説として、Lonberg, Nat. Biotech. 23:1117-1125 (2005) を参照のこと。また、例えば、XENOMOUSE（商標）技術を記載した米国特許第6,075,181号および第6,150,584号；HUMAB（登録商標）技術を記載した米国特許第5,770,429号；K-M MOUSE（登録商標）技術を記載した米国特許第7,041,870号；ならびに、VELOCIMOUSE（登録商標）技術を記載した米国特許出願公開第2007/0061900号を、併せて参照のこと。このような動物によって生成された完全抗体からのヒト可変領域は、例えば、異なるヒト定常領域と組み合わせるなどして、さらに修飾されてもよい。

【０１８５】

ヒト抗体は、ハイブリドーマに基づいた方法でも作ることができる。ヒトモノクローナル抗体の製造のための、ヒトミエローマおよびマウス‐ヒトヘテロミエローマ細胞株は、既に記述されている。（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)；およびBoerner et al., J. Immunol. 14

7: 86 (1991) 参照。）ヒトB細胞ハイブリドーマ技術を介して生成されたヒト抗体も、Li et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 103:3557-3562 (2006) に述べられている。追加的な方法としては、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抗体の製造を記載）、および、Ni, Xiandai Mianyixue 26(4):265-268 (2006)（ヒト－ヒトハイブリドーマを記載）に記載されたものを含む。ヒトハイブリドーマ技術（トリオーマ技術）も、Vollmers and Brandlein, Histology and Histopathology 20(3):927-937 (2005) およびVollmers and Brandlein, Methods and Findings in Experimental and Clinical Pharmacology 27(3):185-91 (2005)に記載されている。

【０１８６】

ヒト抗体は、ヒト由来ファージディスプレイライブラリーから選択されたFvクローン可変ドメイン配列を単離することでも生成できる。このような可変ドメイン配列は、次に所望のヒト定常ドメインと組み合わせることができる。抗体ライブラリーからヒト抗体を選択する手法を、以下に述べる。

【０１８７】

５．ライブラリー由来の抗体

本発明の抗体は、所望の1つまたは複数の活性を伴う抗体についてコンビナトリアルライブラリーをスクリーニングすることによって単離してもよい。例えば、ファージディスプレイライブラリーの生成や、所望の結合特性を備える抗体についてそのようなライブラリーをスクリーニングするための、様々な方法が当該技術分野において知られている。そのような方法は、Hoogenboom et al., Methods in Molecular Biology 178:1-37 (O'Brien et al., ed., Human Press, Totowa, NJ, 2001) において総説されており、さらに例えば、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, 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)； およびLee et al., J. Immunol. Methods 284(1-2):119-132 (2004) に記載されている。

【０１８８】

特定のファージディスプレイ法において、VHおよびVL遺伝子のレパートリーは、ポリメラーゼ連鎖反応 (polymerase chain reaction: PCR) により別々にクローニングされ、無作為にファージライブラリー中で再結合され、当該ファージライブラリーは、Winter et al., Ann. Rev. Immunol. 12: 433-455 (1994) に述べられているようにして、抗原結合ファージについてスクリーニングされ得る。ファージは、典型的には、単鎖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。免疫化された供給源からのライブラリーは、ハイブリドーマを構築することを要さずに、免疫源に対する高アフィニティ抗体を提供する。あるいは、Griffiths et al., EMBO J, 12: 725-734 (1993) に記載されるように、ナイーブレパートリーを（例えば、ヒトから）クローニングして、免疫化することなしに、広範な非自己および自己抗原への抗体の単一の供給源を提供することもできる。最後に、ナイーブライブラリーは、Hoogenboom and Winter, J. Mol. Biol. 227: 381-388 (1992) に記載されるように、幹細胞から再編成前のV-遺伝子セグメントをクローニングし、超可変CDR3領域をコードしかつin vitroで再構成を達成するための無作為配列を含んだPCRプライマーを用いることにより、合成的に作ることもできる。ヒト抗体ファージライブラリーを記載した特許文献は、例えば：米国特許第5,750,373号、ならびに、米国特許出願公開第2005/0079574号、2005/0119455号、第2005/0266000号、第2007/0117126号、第2007/0160598号、第2007/0237764号、第2007/0292936号、および第2009/0002360号を含む。

【０１８９】

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、本明細書ではヒト抗体ま

たはヒト抗体断片と見なす。
【０１９０】
６．多重特異性抗体
特定の態様において、本明細書で提供される抗体は、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つの異なる部位に結合特異性を有する、モノクローナル抗体である。特定の態様において、結合特異性の1つは、C1sに対するものであり、もう1つは他の任意の抗原へのものである。特定の態様において、二重特異性抗体は、C1sの異なった2つのエピトープに結合してもよい。二重特異性抗体は、C1sを発現する細胞に細胞傷害剤を局在化するために使用されてもよい。二重特異性抗体は、全長抗体としてまたは抗体断片として調製され得る。
【０１９１】
多重特異性抗体を作製するための手法は、これらに限定されるものではないが、異なる特異性を有する2つの免疫グロブリン重鎖－軽鎖ペアの組み換え共発現（Milstein and Cuello, Nature 305: 537 (1983)、WO93/08829、およびTraunecker et al., EMBO J. 10: 3655 (1991) 参照）、および「knob-in-hole」技術（例えば、米国特許第5,731,168号参照）を含む。多重特異性抗体は、Fcヘテロ二量体分子を作製するために静電ステアリング効果 (electrostatic steering effect) を操作すること (WO2009/089004A1)；2つ以上の抗体または断片を架橋すること（米国特許第4,676,980号およびBrennan et al., Science 229: 81 (1985)参照）；ロイシンジッパーを用いて2つの特異性を有する抗体を作成すること（Kostelny et al., J. Immunol. 148(5):1547-1553 (1992) 参照）；「ダイアボディ」技術を用いて二重特異性抗体断片を作製すること（Hollinger et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:6444-6448 (1993) 参照）；および、単鎖Fv (scFv) 二量体を用いること（Gruber et al., J. Immunol., 152:5368 (1994) 参照）；および、例えばTutt et al., J. Immunol. 147: 60 (1991) に記載されるように三重特異性抗体を調製すること、によって作製してもよい。
【０１９２】
「オクトパス抗体」を含む、3つ以上の機能的抗原結合部位を伴う改変抗体も、本明細書では含まれる（例えば、米国特許出願公開第2006/0025576 A1号参照）。
【０１９３】
本明細書で抗体または断片は、C1sと別の異なる抗原とに結合する1つの抗原結合部位を含む、「デュアルアクティングFab」または「DAF」も含む（例えば、米国特許出願公開第2008/0069820号参照）。
【０１９４】
７．抗体変異体
特定の態様において、本明細書で提供される抗体のアミノ酸配列変異体も、考慮の内である。例えば、抗体の結合アフィニティおよび/または他の生物学的特性を改善することが、望ましいこともある。抗体のアミノ酸配列変異体は、抗体をコードするヌクレオチド配列に適切な修飾を導入すること、または、ペプチド合成によって、調製されてもよい。そのような修飾は、例えば、抗体のアミノ酸配列からの欠失、および/または抗体のアミノ酸配列中への挿入、および/または抗体のアミノ酸配列中の残基の置換を含む。最終構築物が所望の特徴（例えば、抗原結合性）を備えることを前提に、欠失、挿入、および置換の任意の組合せが、最終構築物に至るために行われ得る。
【０１９５】
ａ）<u>置換、挿入、および欠失変異体</u>
特定の態様において、1つまたは複数のアミノ酸置換を有する抗体変異体が提供される。置換的変異導入の目的部位は、HVRおよびFRを含む。保存的置換を、表１の「好ましい置換」の見出しの下に示す。より実質的な変更を、表１の「例示的な置換」の見出しの下に提供するとともに、アミノ酸側鎖のクラスに言及しつつ下で詳述する。アミノ酸置換は目的の抗体に導入されてもよく、産物は、例えば、保持/改善された抗原結合性、低下した免疫原性、または改善したADCCまたはCDCなどの、所望の活性についてスクリーニング

されてもよい。

【０１９６】

【表１】

元の 残基	例示的な 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; ノルロイシン	Leu
Leu (L)	ノルロイシン; Ile; Val; Met; Ala; Phe	Ile
Lys (K)	Arg; Gln; Asn	Arg
Met (M)	Leu; Phe; Ile	Leu
Phe (F)	Trp; Leu; Val; Ile; Ala; Tyr	Tyr
Pro (P)	Ala	Ala
Ser (S)	Thr	Thr
Thr (T)	Val; Ser	Ser
Trp (W)	Tyr; Phe	Tyr
Tyr (Y)	Trp; Phe; Thr; Ser	Phe
Val (V)	Ile; Leu; Met; Phe; Ala; ノルロイシン	Leu

【０１９７】

アミノ酸は、共通の側鎖特性によって群に分けることができる：

(1) 疎水性：ノルロイシン、メチオニン (Met)、アラニン (Ala)、バリン (Val)、ロイシン (Leu)、イソロイシン (Ile)；

(2) 中性の親水性：システイン (Cys)、セリン (Ser)、トレオニン (Thr)、アスパラギン (Asn)、グルタミン (Gln)；

(3) 酸性：アスパラギン酸 (Asp)、グルタミン酸 (Glu)；

(4) 塩基性：ヒスチジン (His)、リジン (Lys)、アルギニン (Arg)；

(5) 鎖配向に影響する残基：グリシン (Gly)、プロリン (Pro)；

(6) 芳香族性：トリプトファン (Trp)、チロシン (Tyr)、フェニルアラニン (Phe)。

非保存的置換は、これらのクラスの1つのメンバーを、別のクラスのものに交換することをいう。

【０１９８】

置換変異体の1つのタイプは、親抗体（例えば、ヒト化またはヒト抗体）の1つまたは複数の超可変領域残基の置換を含む。通常、その結果として生じ、さらなる試験のために選ばれた変異体は、親抗体と比較して特定の生物学的特性における修飾（例えば、改善）（

例えば、増加したアフィニティ、低下した免疫原性）を有する、および/または親抗体の特定の生物学的特性を実質的に保持しているであろう。例示的な置換変異体は、アフィニティ成熟抗体であり、これは、例えばファージディスプレイベースのアフィニティ成熟技術（例えば本明細書に記載されるもの）を用いて適宜作製され得る。簡潔に説明すると、1つまたは複数のHVR残基を変異させ、そして変異抗体をファージ上に提示させ、特定の生物活性（例えば、結合アフィニティ）に関してスクリーニングを行う。

【０１９９】

改変（例えば、置換）は、例えば抗体のアフィニティを改善するために、HVRにおいて行われ得る。そのような改変は、HVRの「ホットスポット」、すなわち、体細胞成熟プロセスの間に高頻度で変異が起こるコドンによってコードされる残基（例えば、Chowdhury, Methods Mol. Biol. 207:179-196 (2008) を参照のこと）および/または抗原に接触する残基において行われ得、得られた変異VHまたはVLが結合アフィニティに関して試験され得る。二次ライブラリーからの構築および再選択によるアフィニティ成熟が、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。アフィニティ成熟のいくつかの態様において、多様性は、任意の様々な方法（例えば、エラープローンPCR、チェーンシャッフリングまたはオリゴヌクレオチド指向変異導入）によって成熟のために選択された可変遺伝子に導入される。次いで、二次ライブラリーが作製される。次いで、このライブラリーは、所望のアフィニティを有する任意の抗体変異体を同定するためにスクリーニングされる。多様性を導入する別の方法は、いくつかのHVR残基（例えば、一度に4～6残基）を無作為化するHVR指向アプローチを含む。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変異導入またはモデリングを用いて、具体的に特定され得る。特に、CDR-H3およびCDR-L3がしばしば標的化される。

【０２００】

特定の態様において、置換、挿入、または欠失は、そのような改変が抗原に結合する抗体の能力を実質的に低下させない限り、1つまたは複数のHVR内で行われ得る。例えば、結合アフィニティを実質的に低下させない保存的改変（例えば、本明細書で提供されるような保存的置換）が、HVRにおいて行われ得る。そのような改変は、例えば、HVRの抗原接触残基の外側であり得る。上記の変異VHおよびVL配列の特定の態様において、各HVRは改変されていないか、わずか1つ、2つ、もしくは3つのアミノ酸置換を含む。

【０２０１】

変異導入のために標的化され得る抗体の残基または領域を同定するのに有用な方法は、Cunningham and Wells (1989), Science 244:1081-1085によって記載される、「アラニンスキャニング変異導入」と呼ばれるものである。この方法において、一残基または一群の標的残基（例えば、荷電残基、例えばアルギニン、アスパラギン酸、ヒスチジン、リジン、およびグルタミン酸）が同定され、中性または負に荷電したアミノ酸（例えば、アラニンもしくはポリアラニン）で置き換えられ、抗体と抗原の相互作用が影響を受けるかどうかが決定される。この初期置換に対して機能的感受性を示したアミノ酸位置に、さらなる置換が導入され得る。あるいはまたは加えて、抗体と抗原の間の接触点を同定するために、抗原抗体複合体の結晶構造を解析してもよい。そのような接触残基および近隣の残基を、置換候補として標的化してもよく、または置換候補から除外してもよい。変異体は、それらが所望の特性を含むかどうかを決定するためにスクリーニングされ得る。

【０２０２】

アミノ酸配列の挿入は、配列内部への単一または複数のアミノ酸残基の挿入と同様、アミノ末端および/またはカルボキシル末端における1残基から100残基以上を含むポリペプチドの長さの範囲での融合も含む。末端の挿入の例は、N末端にメチオニル残基を伴う抗体を含む。抗体分子の他の挿入変異体は、抗体のN-またはC-末端に、酵素（例えば、ADEPTのための）または抗体の血漿中半減期を増加させるポリペプチドを融合させたものを含む。

【０２０３】

ｂ）グリコシル化変異体

特定の態様において、本明細書で提供される抗体は、抗体がグリコシル化される程度を増加させるまたは減少させるように改変されている。抗体へのグリコシル化部位の追加または削除は、1つまたは複数のグリコシル化部位を作り出すまたは取り除くようにアミノ酸配列を改変することにより、簡便に達成可能である。

【０２０４】

抗体がFc領域を含む場合、そこに付加される炭水化物が改変されてもよい。哺乳動物細胞によって産生される天然型抗体は、典型的には、枝分かれした二分岐のオリゴ糖を含み、当該オリゴ糖は通常Fc領域のCH2ドメインのAsn297にN-リンケージによって付加されている。例えば、Wright et al., TIBTECH 15:26-32 (1997) 参照。オリゴ糖は、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、およびシアル酸などの種々の炭水化物、また、二分岐のオリゴ糖構造の「幹」中のGlcNAcに付加されたフコースを含む。いくつかの態様において、本発明の抗体中のオリゴ糖の修飾は、特定の改善された特性を伴う抗体変異体を作り出すために行われてもよい。

【０２０５】

一態様において、Fc領域に（直接的または間接的に）付加されたフコースを欠く炭水化物構造体を有する抗体変異体が提供される。例えば、そのような抗体におけるフコースの量は、1%～80%、1%～65%、5%～65%または20%～40%であり得る。フコースの量は、例えばWO2008/077546に記載されるようにMALDI-TOF質量分析によって測定される、Asn297に付加されたすべての糖構造体（例えば、複合、ハイブリッド、および高マンノース構造体）の和に対する、Asn297における糖鎖内のフコースの平均量を計算することによって決定される。Asn297は、Fc領域の297位のあたりに位置するアスパラギン残基を表す（Fc領域残基のEUナンバリング）。しかし、複数の抗体間のわずかな配列の多様性に起因して、Asn297は、297位の±3アミノ酸上流または下流、すなわち294位～300位の間に位置することもあり得る。そのようなフコシル化変異体は、改善されたADCC機能を有し得る。例えば、米国特許出願公開第2003/0157108号 (Presta, L.) ；第2004/0093621号 (Kyowa Hakko Kogyo Co., Ltd) を参照のこと。「脱フコシル化」または「フコース欠損」抗体変異体に関する刊行物の例は、US2003/0157108; WO2000/61739; WO2001/29246; US2003/0115614; US2002/0164328; US2004/0093621; US2004/0132140; US2004/0110704; US2004/0110282; US2004/0109865; WO2003/085119; WO2003/084570; WO2005/035586; WO2005/035778; WO2005/053742; WO2002/031140; Okazaki et al., J. Mol. Biol. 336:1239-1249 (2004); Yamane-Ohnuki et al., Biotech. Bioeng. 87: 614 (2004) を含む。脱フコシル化抗体を産生することができる細胞株の例は、タンパク質のフコシル化を欠くLec13 CHO細胞（Ripka et al., Arch. Biochem. Biophys. 249:533-545 (1986)；US2003/0157108 A1、Presta, L；およびWO2004/056312 A1、Adams et al.、特に実施例11）およびノックアウト細胞株、例えばアルファ-1,6-フコシルトランスフェラーゼ遺伝子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)；およびWO2003/085107を参照のこと）を含む。

【０２０６】

例えば抗体のFc領域に付加された二分枝型オリゴ糖がGlcNAcによって二分されている、二分されたオリゴ糖を有する抗体変異体がさらに提供される。そのような抗体変異体は、減少し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。そのような抗体変異体の例は、例えば、WO2003/011878 (Jean-Mairet et al.) ；米国特許第6,602,684号 (Umana et al.)；およびUS2005/0123546 (Umana et al.) に記載されている。Fc領域に付加されたオリゴ糖中に少なくとも1つのガラクトース残基を有する抗体変異体も提供される。そのような抗体変異体は、改善されたCDC機能を有し得る。そのような抗体変異体は、例えば、WO1997/30087 (Patel et al.)；WO1998/58964 (Raju, S.)；およびWO1999/22764 (Raju, S.) に記載されている。

【０２０７】
ｃ）Fc領域変異体
（スイーピング技術）
特定の態様において、本明細書で提供される抗体のFc領域に1つまたは複数のアミノ酸改変を導入して、それによりFc領域変異体を生成してもよい。Fc領域変異体は、1つまたは複数のアミノ酸ポジションのところでアミノ酸改変（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のFc領域）を含んでもよい。いくつかの態様において、Fc領域はヒトIgG1のFc領域である。
【０２０８】
血漿中抗原濃度の低下を促進するためおよび／または抗体の薬物動態を改善するため、IgGのFc領域内のFcRnに対する結合部位のアミノ酸残基が、それらの細胞内への取り込みを促進するように改変され得る。pH依存性を有する抗体がこのように改変される場合、その変異体は、より強くFcRnに結合し、抗原を（pHが酸性である）エンドソーム内へと効率的に移送して分解することができるが、それ自身はより効率的に細胞表面にリサイクルされ得る、「スイーピング」抗体であろう。そのような改変された「スイーピング」抗体は、その改変を有さない元の（親の）抗体と比較して、中性pHにおいて細胞表面上のFcRnに強く結合し、抗原の取り込みおよび分解を向上させ得る（Semin Immunopathol. 2018; 40(1): 125-140）。
【０２０９】
いくつかの局面において、抗体は、血漿中抗原濃度の低下を促進しかつ／または抗体の薬物動態を改善するように少なくとも1つのアミノ酸改変をFc領域内に有するFc領域を含む。
【０２１０】
いくつかの態様において、Fc領域は、その活性型Fcγ受容体に対する結合活性が天然型ヒトIgG1のFc領域の当該結合活性よりも強い、ヒトFc領域である。例えばWO 2013/047752で言及されているように、活性型Fcγ受容体に対する結合活性を向上させるために、Fc領域内の221、222、223、224、225、227、228、230、231、232、233、234、235、236、237、238、239、240、241、243、244、245、246、247、249、250、251、254、255、256、258、260、262、263、264、265、266、267、268、269、270、271、272、273、274、275、276、278、279、280、281、282、283、284、285、286、288、290、291、292、293、294、295、296、297、298、299、300、301、302、303、304、305、311、313、315、317、318、320、322、323、324、325、326、327、328、329、330、331、332、333、334、335、336、337、339、376、377、378、379、380、382、385、392、396、421、427、428、429、434、436および440位（EUナンバリング）のアミノ酸からなる群より選択される1つまたは複数のアミノ酸が、その親の（元の）抗体である天然型ヒトIgG1のFc領域内の対応する部位のアミノ酸と相違するように改変され得る。
【０２１１】
いくつかの態様において、Fc領域は、その抑制型Fcγ受容体に対する結合活性が活性型Fcγ受容体に対する結合活性よりも強い、ヒトFc領域である。例えばWO 2013/125667で言及されているように、抑制型Fcγ受容体に対する結合活性を向上させるために、Fc領域内の244、245、249、250、251、252、253、254、255、256、257、258、260、262、265、270、272、279、283、285、286、288、293、303、305、307、308、309、311、312、314、316、317、318、332、339、340、341、343、356、360、362、375、376、377、378、380、382、385、386、387、388、389、400、413、415、423、424、427、428、430、431、433、434、435、436、438、439、440、442および447位（EUナンバリング）のアミノ酸からなる群より選択される1つまたは複数のアミノ酸が、天然型ヒトIgG1のFc領域内の対応する部位のアミノ酸と相違するように改変され得る。
【０２１２】

いくつかの態様において、Fc領域は、その中性pHにおけるFcRnに対する結合活性が天然型ヒトIgG1のFc領域の当該結合活性よりも強い、ヒトFc領域である。例えばWO 2011/122011で言及されているように、中性pHにおけるFcRnに対する結合活性を向上させるために、Fc領域内の237、238、239、248、250、252、254、255、256、257、258、265、270、286、289、297、298、303、305、307、308、309、311、312、314、315、317、325、332、334、360、376、380、382、384、385、386、387、389、424、428、433、434および436位（EUナンバリング）のアミノ酸からなる群より選択される1つまたは複数のアミノ酸が、天然型ヒトIgG1のFc領域内の対応する部位のアミノ酸と相違するように改変され得る。

【０２１３】

特定の態様において、すべてではないがいくつかのエフェクター機能を備える抗体変異体も、本発明の考慮の内であり、当該エフェクター機能は、抗体を、そのin vivoでの半減期が重要であるが、特定のエフェクター機能（補体およびADCCなど）は不要または有害である場合の適用に望ましい候補とするものである。CDCおよび/またはADCC活性の低下/欠乏を確認するために、in vitroおよび/またはin vivoの細胞傷害測定を行うことができる。例えば、Fc受容体（FcR）結合測定は、抗体がFcγR結合性を欠く（よってADCC活性を欠く蓋然性が高い）一方でFcRn結合能を維持することを確かめるために行われ得る。ADCCを媒介するプライマリ細胞であるNK細胞はFcγRIIIのみを発現するが、一方単球はFcγRI、FcγRII、FcγRIIIを発現する。造血細胞上のFcRの発現は、Ravetch and Kinet, Annu. Rev. Immunol. 9:457-492 (1991) の第464頁のTable 3にまとめられている。目的の分子のADCC活性を評価するためのin vitro測定法（アッセイ）の非限定的な例は、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) 参照）および Hellstrom I. et al., Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 82:1499-1502 (1985)；米国特許第5,821,337号（Bruggemann M. et al., J. Exp. Med. 166:1351-1361 (1987) 参照）に記載されている。あるいは、非放射性の測定法を用いてもよい（例えば、フローサイトメトリー用のACT1（商標）非放射性細胞傷害性アッセイ(CellTechnology, Inc. Mountain View, CA)；および、CytoTox 96（登録商標）non-radioactive cytotoxicity assays 法 (Promega, Madison, WI) 参照）。このような測定法に有用なエフェクター細胞は、末梢血単核細胞 (peripheral blood mononuclear cell: PBMC) およびナチュラルキラー (natural killer: NK) 細胞を含む。あるいはまたは加えて、目的の分子のADCC活性は、例えば、Clynes et al., Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 95:652-656 (1998) に記載されるような動物モデルにおいて、in vivoで評価されてもよい。また、抗体がC1qに結合できないこと、よってCDC活性を欠くことを確認するために、C1q結合測定を行ってもよい。例えば、WO2006/029879 および WO2005/100402のC1qおよびC3c結合ELISAを参照のこと。また、補体活性化を評価するために、CDC測定を行ってもよい（例えば、Gazzano-Santoro et al., J. Immunol. Methods 202:163 (1996)；Cragg M.S. et al., Blood 101:1045-1052 (2003)；およびCragg M.S. and M.J. Glennie et al., Blood 103:2738-2743 (2004) 参照）。さらに、FcRn結合性およびin vivoでのクリアランス/半減期の決定も、当該技術分野において知られた方法を用いて行い得る（例えばPetkova S.B. et al., Int'l. Immunol. 18(12):1759-1769 (2006) 参照）。

【０２１４】

低下したエフェクター機能を伴う抗体は、Fc領域残基238、265、269、270、297、327、および329のうちの1つまたは複数の置換を伴うものを含む（米国特許第6,737,056号）。このようなFc変異体は、残基265および297のアラニンへの置換を伴ういわゆる「DANA」Fc変異体（米国特許第7,332,581号）を含む、アミノ酸ポジション265、269、270、297、および327の2つ以上の置換を伴うFc変異体を含む。

【０２１５】

FcRへの向上または低下した結合性を伴う特定の抗体変異体が、記述されている。（米国特許第6,737,056号；WO2004/056312、およびShields et al., J. Biol. Chem. 9(

2):6591-6604 (2001) を参照のこと。）

【０２１６】

特定の態様において、抗体変異体は、ADCCを改善する1つまたは複数のアミノ酸置換（例えば、Fc領域のポジション298、333、および/または334（EUナンバリングでの残基）のところでの置換）を伴うFc領域を含む。

【０２１７】

いくつかの態様において、例えば米国特許第6,194,551号、WO99/51642、およびIdusogie et al., J. Immunol. 164: 4178-4184 (2000) に記載されるように、改変された（つまり、向上したか低下したかのいずれかである）C1q結合性および/または補体依存性細胞傷害 (CDC) をもたらす改変が、Fc領域においてなされる。

【０２１８】

増加した半減期、および新生児型Fc受容体（FcRn：母体のIgG類を胎児に移行させる役割を負う（Guyer et al., J. Immunol. 117:587 (1976) and Kim et al., J. Immunol. 24:249 (1994)））に対する向上した結合性を伴う抗体が、米国特許出願公開第2005/0014934 A1号(Hinton et al.) に記載されている。これらの抗体は、Fc領域のFcRnへの結合性を向上させる1つまたは複数の置換をその中に伴うFc領域を含む。このようなFc変異体は、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、または434のうちの1つまたは複数のところでの置換（例えば、Fc領域残基434の置換（米国特許第7,371,826号））を伴うものを含む。

Fc領域変異体の他の例については、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；およびWO94/29351も参照のこと。

【０２１９】

ｄ）<u>システイン改変抗体変異体</u>

特定の態様において、抗体の1つまたは複数の残基がシステイン残基で置換された、システイン改変抗体（例えば、「thioMAb」）を作り出すことが望ましいだろう。特定の態様において、置換を受ける残基は、抗体の、アクセス可能な部位に生じる。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が抗体のアクセス可能な部位に配置され、当該反応性のチオール基は、当該抗体を他の部分（薬剤部分またはリンカー‐薬剤部分など）にコンジュゲートして本明細書でさらに詳述するようにイムノコンジュゲートを作り出すのに使用されてもよい。特定の態様において、以下の残基の任意の1つまたは複数が、システインに置換されてよい：軽鎖のV205（Kabatナンバリング）；重鎖のA118（EUナンバリング）；および重鎖Fc領域のS400（EUナンバリング）。システイン改変抗体は、例えば、米国特許第7,521,541号に記載されるようにして生成されてもよい。

【０２２０】

ｅ）<u>抗体誘導体</u>

特定の態様において、本明細書で提供される抗体は、当該技術分野において知られておりかつ容易に入手可能な追加の非タンパク質部分を含むように、さらに修飾されてもよい。抗体の誘導体化に好適な部分は、これに限定されるものではないが、水溶性ポリマーを含む。水溶性ポリマーの非限定的な例は、これらに限定されるものではないが、ポリエチレングリコール (PEG)、エチレングリコール/プロピレングリコールのコポリマー、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でも）、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、ポリプロピレングリコールホモポリマー、ポリプロピレンオキシド/エチレンオキシドコポリマー、ポリオキシエチル化ポリオール類（例えばグリセロール）、ポリビニルアルコール、および、これらの混合物を含む。ポリエチレングリコールプロピオンアルデヒドは、その水に対する安

定性のために、製造において有利であるだろう。ポリマーは、いかなる分子量でもよく、枝分かれしていてもしていなくてもよい。抗体に付加されるポリマーの数には幅があってよく、2つ以上のポリマーが付加されるならそれらは同じ分子であってもよいし、異なる分子であってもよい。一般的に、誘導体化に使用されるポリマーの数および/またはタイプは、これらに限定されるものではないが、改善されるべき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の療法に使用されるか否か、などへの考慮に基づいて、決定することができる。

【０２２１】

別の態様において、抗体と、放射線に曝露することにより選択的に熱せられ得る非タンパク質部分との、コンジュゲートが提供される。一態様において、非タンパク質部分は、カーボンナノチューブである（Kam et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 102: 11600-11605 (2005)）。放射線はいかなる波長でもよく、またこれらに限定されるものではないが、通常の細胞には害を与えないが抗体－非タンパク質部分に近接した細胞を死滅させる温度まで非タンパク質部分を熱するような波長を含む。

【０２２２】

Ｂ．組み換えの方法および構成

例えば、米国特許第4,816,567号に記載されるとおり、抗体は組み換えの方法や構成を用いて製造することができる。一態様において、本明細書に記載の抗C1s抗体をコードする、単離された核酸が提供される。そのような核酸は、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）をコードしてもよい。さらなる態様において、このような核酸を含む1つまたは複数のベクター（例えば、発現ベクター）が提供される。さらなる態様において、このような核酸を含む宿主細胞が提供される。このような態様の1つでは、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一のベクターと抗体のVHを含むアミノ酸配列をコードする核酸を含む第二のベクターを含む（例えば、形質転換されている）。一態様において、宿主細胞は、真核性である（例えば、チャイニーズハムスター卵巣(CHO)細胞）またはリンパ系の細胞（例えば、Y0、NS0、SP2/0細胞））。一態様において、抗C1s抗体の発現に好適な条件下で、上述のとおり当該抗体をコードする核酸を含む宿主細胞を培養すること、および任意で、当該抗体を宿主細胞（または宿主細胞培養培地）から回収することを含む、抗C1s抗体を作製する方法が提供される。

【０２２３】

抗C1s抗体の組み換え製造のために、（例えば、上述したものなどの）抗体をコードする核酸を単離し、さらなるクローニングおよび/または宿主細胞中での発現のために、1つまたは複数のベクターに挿入する。そのような核酸は、従来の手順を用いて容易に単離および配列決定されるだろう（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することができるオリゴヌクレオチドプローブを用いることで）。

【０２２４】

抗体をコードするベクターのクローニングまたは発現に好適な宿主細胞は、本明細書に記載の原核細胞または真核細胞を含む。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は、細菌で製造してもよい。細菌での抗体断片およ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、第5,789,199号、および第5,840,523号を参照のこと。（加えて、大腸菌における抗体断片の発現について記載したCharlton, Methods in Molecular Biology, Vol. 248 (B.K.C. Lo, ed., Humana Press, Totowa, NJ, 2003), pp.245-254も参照のこと。）発現後、抗体は細菌細胞ペーストから可溶性フラクション中に単離されてもよく、またさらに精製することができる。

【０２２５】

原核生物に加え、部分的なまたは完全なヒトのグリコシル化パターンを伴う抗体の産生をもたらす、グリコシル化経路が「ヒト化」されている菌類および酵母の株を含む、糸状

菌または酵母などの真核性の微生物は、抗体コードベクターの好適なクローニングまたは発現宿主である。Gerngross, Nat. Biotech. 22:1409-1414 (2004)および Li et al., Nat. Biotech. 24:210-215 (2006) を参照のこと。

【０２２６】

多細胞生物（無脊椎生物および脊椎生物）に由来するものもまた、グリコシル化された抗体の発現のために好適な宿主細胞である。無脊椎生物細胞の例は、植物および昆虫細胞を含む。昆虫細胞との接合、特にSpodoptera frugiperda細胞の形質転換に用いられる、数多くのバキュロウイルス株が同定されている。

【０２２７】

植物細胞培養物も、宿主として利用することができる。例えば、米国特許第5,959,177号、第6,040,498号、第6,420,548号、第7,125,978号、および第6,417,429号（トランスジェニック植物で抗体を産生するための、PLANTIBODIES（商標）技術を記載）を参照のこと。

【０２２８】

脊椎動物細胞もまた宿主として使用できる。例えば、浮遊状態で増殖するように適応された哺乳動物細胞株は、有用であろう。有用な哺乳動物宿主細胞株の他の例は、SV40で形質転換されたサル腎CV1株 (COS-7)；ヒト胎児性腎株（Graham et al., J. Gen Virol. 36:59 (1977) などに記載の293または293細胞）；仔ハムスター腎細胞 (BHK)；マウスセルトリ細胞（Mather, Biol. Reprod. 23:243-251 (1980) などに記載のTM4細胞）；サル腎細胞 (CV1)；アフリカミドリザル腎細胞 (VERO-76)；ヒト子宮頸部癌細胞 (HELA)；イヌ腎細胞 (MDCK)；Buffalo系ラット肝細胞 (BRL 3A)；ヒト肺細胞 (W138)；ヒト肝細胞 (Hep G2)；マウス乳癌 (MMT 060562)；TRI細胞（例えば、Mather et al., Annals N.Y. Acad. Sci. 383:44-68 (1982) に記載）；MRC5細胞；および、FS4細胞などである。他の有用な哺乳動物宿主細胞株は、DHFR- CHO細胞 (Urlaub et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77:4216 (1980)) を含むチャイニーズハムスター卵巣 (CHO) 細胞；およびY0、NS0、およびSp2/0などの骨髄腫細胞株を含む。抗体産生に好適な特定の哺乳動物宿主細胞株の総説として、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) を参照のこと。

【０２２９】

pH依存性を有する抗体は、例えばWO 2009/125825に記載されるような、スクリーニング方法および/または変異誘発方法を用いることによって取得され得る。当該スクリーニング方法は、特定の抗原に特異的な抗体の集団内からpH依存的結合特性を有する抗体を同定する任意のプロセスを含み得る。特定の態様において、当該スクリーニング方法は、酸性pHおよび中性pHの両方において初期抗体集団内の個々の抗体の1つまたは複数の結合パラメータ（例えば、KDまたはkd）を測定することを含み得る。抗体の結合パラメータは、例えば表面プラズモン共鳴、または特定の抗原に対する抗体の結合特性の定量的もしくは定性的な評価を可能にする任意の他の分析方法を用いて測定され得る。特定の態様において、当該スクリーニング方法は、2以上の酸性KD/中性KD比で抗原に結合する抗体を同定することを含み得る。あるいは、当該スクリーニング方法は、2以上の酸性kd/中性kd比で抗原に結合する抗体を同定することを含み得る。

【０２３０】

別の態様において、変異誘発方法は、抗原に対する抗体のpH依存的結合性を増強するために抗体の重鎖内および/または軽鎖内にアミノ酸の欠失、置換または付加を組み込むことを含み得る。特定の態様において、変異誘発は、抗体の1つまたは複数の可変ドメイン内、例えば1つまたは複数のHVR（例えば、CDR）内で行われ得る。例えば、変異誘発は、抗体の1つまたは複数のHVR（例えば、CDR）内のアミノ酸を別のアミノ酸で置換することを含み得る。特定の態様において、変異誘発は、抗体の少なくとも1つのHVR（例えば、CDR）内の1つまたは複数のアミノ酸をヒスチジンで置換することを含み得る。特定の態様において、「増強されたpH依存的結合性」は、変異型の抗体が、変異誘発前の元の「

親」抗体（すなわち、pH依存性の低い抗体）よりも大きな酸性KD/中性KD比または大きな酸性kd/中性kd比を示すことを意味する。特定の態様において、変異型の抗体は、2以上の酸性KD/中性KD比を有する。あるいは、変異型の抗体は、2以上の酸性kd/中性kd比を有する。

【０２３１】

ポリクローナル抗体は好ましくは、関連する抗原およびアジュバントの複数回の皮下(sc)または腹腔内(ip)注射により動物において産生される。関連する抗原を、免疫化される種において免疫原性であるタンパク質に、例えば、キーホールリンペットヘモシアニン、血清アルブミン、ウシサイログロブリン、またはダイズトリプシン阻害因子に、二官能性物質または誘導体化剤、例えば、マレイミドベンゾイルスルホスクシンイミドエステル(システイン残基を介するコンジュゲーション）、N-ヒドロキシスクシンイミド(リシン残基を介する)、グルタルアルデヒド、無水コハク酸、$SOCl_2$、または$R^1N=C=NR$(ここでRおよびR^1は異なるアルキル基である)を用いて、コンジュゲートすることが有用であり得る。

【０２３２】

動物(通常は非ヒト哺乳動物)は、例えば、(ウサギまたはマウスについてそれぞれ)100μgまたは5μgのタンパク質またはコンジュゲートを3倍容量のフロイント完全アジュバントと組み合わせてその溶液を複数部位に皮内注射することによって、抗原、免疫原性コンジュゲート、または誘導体に対して免疫化される。1ヶ月後、複数部位に皮下注射することによって、最初の量の1/5～1/10の、フロイント完全アジュバント中のペプチドまたはコンジュゲートで該動物を追加免疫する。7～14日後、該動物から採血し、血清を抗体力価についてアッセイする。力価がプラトーに達するまで動物を追加免疫する。好ましくは、同一抗原であるが別のタンパク質にコンジュゲートされたおよび/または別の架橋試薬を介してコンジュゲートされたコンジュゲートを用いて、該動物を追加免疫する。コンジュゲートは、組み換え細胞培養物中でタンパク質融合体として調製することも可能である。また、免疫応答を増強するために、ミョウバンなどの凝集剤も好適に使用される。

【０２３３】

モノクローナル抗体は、実質的に均一な抗体の集団から得られ、すなわち、該集団を構成する個々の抗体は、若干量存在しうる自然に生じる潜在的な突然変異および/または翻訳後修飾(例えば、異性化、アミド化)を除いて同一である。したがって、修飾語「モノクローナル」は、別個の抗体の混合物ではないという抗体の特徴を示している。

【０２３４】

例えば、モノクローナル抗体は、Kohler et al., Nature 256(5517):495-497 (1975)に最初に記載されたハイブリドーマ法を用いて作製することができる。ハイブリドーマ法では、マウスまたは他の適切な宿主動物、例えばハムスターを本明細書に上記したように免疫化して、免疫化に使用されたタンパク質に特異的に結合する抗体を製造するか製造する能力があるリンパ球を誘導する。あるいは、リンパ球をin vitroで免疫化することもできる。

【０２３５】

免疫化剤は、典型的には、抗原タンパク質またはその融合変異体を包含する。一般的に、ヒト起源の細胞が望まれる場合には末梢血リンパ球(PBL)が使用され、非ヒト哺乳動物源が望まれる場合には脾臓細胞またはリンパ節細胞が使用される。その後、リンパ球は、ポリエチレングリコールなどの適切な融合剤を用いて不死化細胞株と融合され、ハイブリドーマ細胞を形成する(Goding, Monoclonal Antibodies: Principles and Practice, Academic Press (1986), pp. 59-103)。

【０２３６】

不死化細胞株は通常、形質転換された哺乳動物細胞、特に、げっ歯類、ウシおよびヒト起源のミエローマ細胞である。通常は、ラットまたはマウスのミエローマ細胞株が利用される。このようにして作製されたハイブリドーマ細胞を、未融合の親ミエローマ細胞の増殖または生存を阻害する1種以上の物質を好ましくは含有する適切な培養培地中に播種して増殖させる。例えば、親ミエローマ細胞が酵素ヒポキサンチングアニンホスホリボシル

トランスフェラーゼ(HGPRTまたはHPRT)を欠く場合、ハイブリドーマ用の培養培地は、典型的には、HGPRT欠損細胞の増殖を妨げる物質であるヒポキサンチン、アミノプテリン、およびチミジン(HAT培地)を含むであろう。

【０２３７】

好ましい不死化ミエローマ細胞とは、効率的に融合し、選択された抗体産生細胞による抗体の安定な高レベルの製造を補助し、かつHAT培地のような培地に対して感受性である、細胞である。これらの中でも、マウスミエローマ株、例えば、米国カリフォルニア州サンディエゴのSalk Institute Cell Distribution Centerから入手できるMOPC-21およびMPC-11マウス腫瘍に由来するもの、ならびに米国バージニア州マナッサスのAmerican Type Culture Collectionから入手できるSP-2細胞(およびその誘導体、例えばX63-Ag8-653)が好ましい。ヒトモノクローナル抗体の製造について、ヒトミエローマ細胞株およびマウス-ヒトヘテロミエローマ細胞株もまた、記載されている(Kozbor et al., J Immunol. 133(6):3001-3005 (1984); Brodeur et al., Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications, Marcel Dekker, Inc., New York, pp. 51-63 (1987))。

【０２３８】

ハイブリドーマ細胞が増殖している培養培地を、抗原に対するモノクローナル抗体の製造についてアッセイする。好ましくは、ハイブリドーマ細胞により製造されたモノクローナル抗体の結合特異性は、免疫沈降によって、またはin vitro結合測定法、例えば放射免疫測定法(RIA)もしくは酵素結合免疫吸着測定法(ELISA)によって決定される。このような技術および測定法は当技術分野で公知である。例えば、結合アフィニティは、Munson, Anal Biochem. 107(1):220-239 (1980)のスキャッチャード(Scatchard)解析によって求めることができる。

【０２３９】

所望の特異性、アフィニティ、および/または活性の抗体を製造するハイブリドーマ細胞が特定された後、該クローンを限界希釈法によりサブクローニングして、標準的な方法(Goding、前掲)により増殖させることができる。この目的のための適切な培養培地としては、例えば、D-MEMまたはRPMI-1640培地が挙げられる。また、ハイブリドーマ細胞は哺乳動物内の腫瘍としてin vivoで増殖させることができる。

【０２４０】

サブクローンにより分泌されたモノクローナル抗体は、培養培地、腹水、または血清から、例えば、プロテインA-セファロース、ヒドロキシアパタイトクロマトグラフィー、ゲル電気泳動、透析、またはアフィニティークロマトグラフィーなどの従来の免疫グロブリン精製法によって、適切に分離される。

【０２４１】

Ｃ．測定法（アッセイ）

本明細書で提供される抗C1s抗体は、当該技術分野において知られている種々の測定法によって、同定され、スクリーニングされ、または物理的/化学的特性および/または生物活性について明らかにされてもよい。

【０２４２】

１．結合測定法および他の測定法

一局面において、本発明の抗体は、例えばELISA、ウエスタンブロット等の公知の方法によって、その抗原結合活性に関して試験される。

【０２４３】

別の局面において、C1sへの結合に関して、本明細書に記載されるいずれかの抗C1s抗体と競合する抗体を同定するため、または本明細書に記載されるいずれかの抗C1s抗体と同じエピトープに結合する抗体を同定するために、競合アッセイが使用され得る。特定の態様において、そのような競合抗体が過剰に存在する場合、これは、C1sに対する参照抗体の結合を少なくとも10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、またはそれ以上阻止する（例えば低減させる）。特定の態様において、そのような競合抗体は、本明細書に記載されるいずれかの抗C1s抗体によって

結合されるのと同じエピトープ（例えば、線状または立体構造エピトープ）に結合する。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、Morris (1996), "Epitope Mapping Protocols," in Methods in Molecular Biology vol. 66 (Humana Press, Totowa, NJ)に提供されている。特定の態様において、そのような競合アッセイを中性pH条件で実施することができる。いくつかの態様において、競合アッセイは、例えばOctet^{TM}システムを用いる、タンデム競合アッセイである。

【０２４４】

例示的な競合アッセイにおいて、固定化されたC1sは、C1sに結合する第1の標識された抗体（例えば、本明細書に記載されているもののうちの1つ）およびC1sへの結合に関して第1の抗体と競合する能力に関して試験される第2の未標識の抗体を含む溶液中でインキュベートされる。第2の抗体は、ハイブリドーマ上清に存在し得る。対照として、固定化されたC1sが、第1の標識された抗体を含むが第2の未標識の抗体を含まない溶液中でインキュベートされる。第1の抗体のC1sへの結合を許容する条件下でのインキュベーションの後、余分な未結合の抗体が除去され、固定化されたC1sに結合した標識の量が測定される。固定化されたC1sに結合した標識の量が対照サンプルと比較して試験サンプルにおいて実質的に減少している場合、それは第2の抗体がC1sへの結合に関して第1の抗体と競合していることを示す。Harlow and Lane (1988), Antibodies: A Laboratory Manual ch. 14 (Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY)を参照のこと。

【０２４５】

別の局面において、本明細書で提供される抗C1s抗体と同じエピトープに結合するまたは本明細書で提供される抗C1s抗体とC1sへの結合に関して競合する抗体は、サンドイッチアッセイを用いて同定され得る。サンドイッチアッセイは2つの抗体を使用することを含み、当該抗体はそれぞれ、検出したいタンパク質の異なる免疫原性部分またはエピトープに結合することができる。サンドイッチアッセイにおいて、固体支持体上に固定化された第1の抗体に試験サンプルアナライトが結合し、続いて第2の抗体がアナライトに結合し、それによって不溶性の3者複合体が形成される。David & Greene、米国特許第4,376,110号を参照のこと。第2の抗体は、それ自体が検出可能部分で標識されてもよい（直接サンドイッチアッセイ）し、検出可能部分で標識された抗免疫グロブリン抗体を用いて測定されてもよい（間接サンドイッチアッセイ）。例えば、サンドイッチアッセイの1つはELISAアッセイであり、この例において、検出可能部分は酵素である。本明細書で提供される抗C1s抗体と同時にC1sに結合する抗体は、当該抗C1s抗体と異なるエピトープに結合する抗体であると判定され得る。したがって、本明細書で提供される抗C1s抗体と同時にはC1sに結合しない抗体は、当該抗C1s抗体と同じエピトープに結合するまたは当該抗C1s抗体とC1sへの結合に関して競合する抗体であると判定され得る。

【０２４６】

2. 活性アッセイ

一局面において、生物活性を有する抗C1s抗体を同定するためのアッセイが提供される。生物活性には、古典経路の活性化の阻止、および当該経路の活性化により生じる切断産物であるC2a、C2b、C3a、C3b、C4a、C4b、C5a、およびC5bの生成の阻止が含まれ得る。in vivoおよび/またはin vitroでそのような生物活性を有する抗体も提供される。

【０２４７】

特定の態様において、本発明の抗体は、そのような生物活性について試験される。いくつかの態様において、本発明の抗体は、ヒツジ赤血球（RBC）抗原に対する抗体によって感作されたヒツジRBCの補体介在性溶血を阻害するその能力について、すなわちRBCアッセイを用いて、評価され得る。いくつかの態様において、本発明の抗体は、ニワトリ赤血球（cRBC）抗原に対する抗体によって感作されたcRBCの補体介在性溶血を阻害するその能力について評価され得る。補体タンパク質の供給源としてヒト血清を用いると、放出されたヘモグロビンの量を分光光度法により測定することによって、本発明の抗体の活性を決定することができる。

【０２４８】

RBCアッセイは、公知の方法、例えばJ. Vis. Exp. 2010; (37): 1923に開示される方法を用いて適切に実施され得る。この文献は、RBC溶解アッセイとして50%溶血性補体（CH50）アッセイを実施する方法について記載している。簡潔に述べると、このアッセイは、古典的補体経路の活性化を測定し、その経路の任意の成分の減少、非存在、または不活性を検出する。それは、血清中の補体成分の赤血球溶解活性を評価する。抗体が試験血清と共にインキュベートされると、この経路が活性化され、溶血が引き起こされる。古典的経路の1つまたは複数の成分が減少すると、CH50値が減少する。CH50アッセイは、補体成分による細胞溶解に対する阻害%を測定する本明細書の実施例において使用されたアッセイと完全に同一ではないが、コンセプトおよび基本構成は本発明と実質的に同一である。本発明において、一態様において、RBCアッセイは以下のようにして実施される。ヒト血清を、関心対象の抗体と共にプレインキュベートする（例えば、摂氏37度（℃）で3時間）。次いでこの血清を等量の感作ヒツジ赤血球に添加し、赤血球が溶解するようインキュベートする（例えば、37℃で1時間）。次いでこの反応を停止させる。この混合物を遠心分離して未溶解細胞をペレット化し、その上清を取り出し、415 nmでの吸光度（OD）から630 nmでのODを差し引いたものを用いてヘモグロビンの放出を分析する。赤血球溶解の阻害率（%）を計算するため、0%阻害を、抗体を添加しない（緩衝液のみの）条件と設定し、100%阻害を、終濃度5 mMのEDTAを添加する条件と設定する（例えば、実施例7を参照のこと）。抗体が一定の赤血球溶解阻害率（%）を示すとき、このことは、その抗体がヒト血清補体に対する中和活性、例えば、C1qとC1r2s2複合体との間の相互作用を阻害する活性を有することを意味する。

【０２４９】

このように、C1qとC1r2s2複合体との間の相互作用を阻害する活性を評価するために、RBCアッセイを用いて、本発明の抗体のヒト血清補体に対する中和活性を評価することができる。一態様において、本発明は、RBCアッセイにおいて少なくとも70%のヒト血清補体に対する中和活性を有する、C1qとC1r2s2複合体との間の相互作用を阻害する単離された抗体を提供する。

【０２５０】

Ｄ．イムノコンジュゲート

本発明はまた、1つまたは複数の細胞傷害剤（例えば化学療法剤または化学療法薬、増殖阻害剤、毒素（例えば細菌、真菌、植物もしくは動物起源のタンパク質毒素、酵素的に活性な毒素、もしくはそれらの断片）または放射性同位体）にコンジュゲートされた本明細書の抗C1s抗体を含むイムノコンジュゲートを提供する。

【０２５１】

一態様において、イムノコンジュゲートは、抗体が、これらに限定されるものではないが以下を含む1つまたは複数の薬剤にコンジュゲートされた、抗体－薬剤コンジュゲート（antibody-drug conjugate: ADC）である：メイタンシノイド（米国特許第5,208,020号、第5,416,064号、および欧州特許第0,425,235号B1参照）；例えばモノメチルオーリスタチン薬剤部分DEおよびDF（MMAEおよびMMAF）（米国特許第5,635,483号および第5,780,588号および第7,498,298号参照）などのオーリスタチン；ドラスタチン；カリケアマイシンまたはその誘導体（米国特許第5,712,374号、第5,714,586号、第5,739,116号、第5,767,285号、第5,770,701号、第5,770,710号、第5,773,001号、および第5,877,296号；Hinman et al., Cancer Res. 53:3336-3342 (1993)；ならびにLode et al., Cancer Res. 58:2925-2928 (1998) 参照）；ダウノマイシンまた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., Bioorganic & 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)；および米国特許第6,630,579号参照）；メトトレキサート；ビンデシン；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、およびオルタタキセルなどのタキサ

ン；トリコテセン；ならびにCC1065。

【０２５２】

別の態様において、イムノコンジュゲートは、これらに限定されるものではないが以下を含む酵素的に活性な毒素またはその断片にコンジュゲートされた、本明細書に記載の抗体を含む：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 (Pseudomonas aeruginosa) 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、シナアブラギリ (Aleurites fordii) タンパク質、ジアンチンタンパク質、ヨウシュヤマゴボウ (Phytolacca americana) タンパク質（PAPI、PAPIIおよびPAP-S）、ツルレイシ (momordica charantia) 阻害剤、クルシン (curcin)、クロチン、サボンソウ (saponaria officinalis) 阻害剤、ゲロニン、ミトゲリン (mitogellin)、レストリクトシン、フェノマイシン、エノマイシン、ならびにトリコテセン。

【０２５３】

別の態様において、イムノコンジュゲートは、放射性コンジュゲートを形成するために放射性原子にコンジュゲートされた本明細書に記載の抗体を含む。様々な放射性同位体が放射性コンジュゲートの製造に利用可能である。例は、^{211}At、^{131}I、^{125}I、^{90}Y、^{186}Re、^{188}Re、^{153}Sm、^{212}Bi、^{32}P、^{212}Pb、およびLuの放射性同位体を含む。放射性コンジュゲートを検出のために使用する場合、放射性コンジュゲートは、シンチグラフィー検査用の放射性原子（例えばTc-99mもしくは^{123}I）、または、核磁気共鳴 (NMR) イメージング（磁気共鳴イメージング、MRIとしても知られる）用のスピン標識（例えばここでもヨウ素-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、または鉄）を含み得る。

【０２５４】

抗体および細胞傷害剤のコンジュゲートは、様々な二官能性タンパク質連結剤を用いて作製され得る。例えばN-スクシンイミジル-3-(2-ピリジルジチオ)プロピオネート (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-カルボキシレート (SMCC)、イミノチオラン (IT)、イミドエステルの二官能性誘導体（例えば、アジプイミド酸ジメチル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-アジド化合物（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）、ジイソシアネート（例えば、トルエン2,6-ジイソシアネート）、およ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）である。例えば、リシン免疫毒素は、Vitetta et al., Science 238:1098 (1987) に記載されるようにして調製され得る。炭素-14標識された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五酢酸 (MX-DTPA) は、抗体への放射性核種のコンジュゲーションのための例示的なキレート剤である。WO94/11026を参照のこと。リンカーは、細胞内での細胞傷害薬の放出を促進する「切断可能なリンカー」であり得る。例えば、酸不安定性リンカー、ペプチダーゼ感受性リンカー、光不安定性リンカー、ジメチルリンカー、またはジスルフィド含有リンカー（Chari et al., Cancer Res. 52:127-131 (1992)；米国特許第5,208,020号）が使用され得る。

【０２５５】

本明細書のイムノコンジュゲートまたはADCは、（例えば、Pierce Biotechnology, Inc., Rockford, IL., U.S.Aから）市販されている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、およびスルホ-SMPB、ならびにSVSB（スクシンイミジル-(4-ビニルスルホン)ベンゾエート）を含むがこれらに限定されない架橋試薬を用いて調製されるコンジュゲートを明示的に考慮するが、これらに限定されない。

【０２５６】

Ｅ．診断および検出のための方法および組成物

特定の態様において、本明細書で提供される抗C1s抗体のいずれも、生物学的サンプル

におけるC1sの存在を検出するのに有用である。本明細書で用いられる用語「検出」は、定量的または定性的な検出を包含する。特定の態様において、生物学的サンプルは、細胞または組織、例えば、血清、全血、血漿、生検サンプル、組織サンプル、細胞懸濁物、唾液、痰、口腔液、脳脊髄液、羊水、腹水、母乳、初乳、乳腺分泌物、リンパ液、尿、汗、涙液、胃液、滑液、腹水、眼用レンズ液、または粘液を含む。

【０２５７】

一態様において、診断方法または検出方法において使用するための抗C1s抗体が提供される。さらなる局面において、生物学的サンプル中のC1sの存在を検出する方法が提供される。特定の態様において、この方法は、C1sへの抗C1s抗体の結合が許容される条件下で本明細書に記載の抗C1s抗体と生物学的サンプルを接触させること、および抗C1s抗体とC1sの間で複合体が形成されたかどうかを検出することを含む。そのような方法は、in vitroの方法またはin vivoの方法であり得る。一態様において、抗C1s抗体は、例えばC1sが患者を選択するためのバイオマーカーである場合、抗C1s抗体を用いる治療に適合する被験体を選択するために使用される。

【０２５８】

本発明の抗体を用いて診断され得る障害の例には、加齢性黄斑変性症、アルツハイマー病、筋萎縮性側索硬化症、アナフィラキシー、嗜銀顆粒性認知症、関節炎（例えば、関節リウマチ）、喘息、アテローム性動脈硬化症、非典型溶血性尿毒症症候群、自己免疫疾患、バラケル・シモンズ症候群（Barraquer-Simons syndrome）、ベーチェット病、英国型アミロイドアンギオパチー、水疱性類天疱瘡、バージャー病、C1q腎症、がん、劇症型抗リン脂質抗体症候群、脳アミロイドアンギオパチー、寒冷凝集素症、大脳皮質基底核変性症、クロイツフェルト・ヤコブ病、クローン病、クリオグロブリン血症性血管炎、拳闘家痴呆、レビー小体型認知症（DLB）、石灰化を伴うびまん性神経原線維変化病、円板状エリテマトーデス、ダウン症候群、巣状分節性糸球体硬化症、形式的思考障害、前頭側頭型認知症（FTD）、17番染色体に連鎖しパーキンソニズムを伴う前頭側頭型認知症、前頭側頭葉変性症、ゲルストマン・ストロイスラー・シャインカー症候群、ギラン・バレー症候群、ハラーホルデン・スパッツ症候群、溶血性尿毒症症候群、遺伝性血管浮腫、低ホスファターゼ症、特発性肺炎症候群、免疫複合体病、封入体筋炎、感染症（例えば、細菌（例えば、髄膜炎菌もしくはレンサ球菌）、ウイルス（例えば、ヒト免疫不全ウイルス（HIV））または他の感染病原体によって引き起こされる疾患）、炎症疾患、虚血/再灌流障害、軽度認知障害、免疫性血小板減少性紫斑病（ITP）、モリブデン補因子欠損症（MoCD）A型、膜性増殖性糸球体腎炎（MPGN）I、膜性増殖性糸球体腎炎（MPGN）II（デンスデポジット病）、膜性腎炎、多発梗塞性認知症、ループス（全身性エリテマトーデス（SLE））、糸球体腎炎、川崎病、多巣性運動ニューロパチー、多発性硬化症、多系統萎縮症、重症筋無力症、心筋梗塞、筋強直性ジストロフィー、視神経脊髄炎、ニーマン・ピック病C型、神経原線維変化を呈する非グアム型運動ニューロン疾患、パーキンソン病、認知症を伴うパーキンソン病、発作性夜間血色素尿症、尋常性天疱瘡、ピック病、脳炎後パーキンソン病、多発筋炎、プリオンタンパク質脳アミロイド血管症、進行性皮質下グリオーシス、進行性核上性麻痺、乾癬、敗血症、志賀毒素産生性大腸菌（E.coli）（STEC）-HuS、脊髄性筋萎縮症、脳卒中、亜急性硬化性全脳炎、神経原線維型認知症、移植片拒絶、血管炎（例えば、ANCA関連血管炎）、ヴェグナー肉芽腫症、鎌状赤血球症、クリオグロブリン血症、混合性クリオグロブリン血症、本態性混合性クリオグロブリン血症、II型混合性クリオグロブリン血症、III型混合性クリオグロブリン血症、腎炎、薬物性血小板減少症、ループス腎炎、水疱性類天疱瘡、後天性表皮水疱症、遅発性溶血性輸血反応、低補体血症性蕁麻疹様血管炎症候群、偽水晶体性水疱性角膜症、および血小板輸血不応状態が含まれるが、これらに限定されない。

【０２５９】

特定の態様において、標識された抗C1s抗体が提供される。標識は、直接的に検出される標識または部分（例えば、蛍光標識、発色標識、高電子密度標識、化学発光標識、および放射性標識）ならびに、例えば酵素反応または分子間相互作用を通じて間接的に検出さ

れる部分（例えば酵素またはリガンド）を含むが、これらに限定されない。例示的な標識は、これらに限定されるものではないが、以下を含む：放射性同位体^{32}P、^{14}C、^{125}I、^{3}Hおよび^{131}I、希土類キレートなどの発蛍光団またはフルオレセインおよびその誘導体、ローダミンおよびその誘導体、ダンシル、ウンベリフェロン、ホタルルシフェラーゼおよび細菌ルシフェラーゼ（米国特許第4,737,456号）などのルシフェラーゼ、ルシフェリン、2,3-ジヒドロフタラジンジオン、西洋ワサビペルオキシダーゼ (horseradish peroxidase: HRP)、アルカリホスファターゼ、β-ガラクトシダーゼ、グルコアミラーゼ、リゾチーム、単糖オキシダーゼ（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およびグルコース-6-リン酸デヒドロゲナーゼ）、過酸化水素を用いて色素前駆体を酸化する酵素（例えばHRP、ラクトペルオキシダーゼ、またはミクロペルオキシダーゼ）と連結されたもの、ウリカーゼおよびキサンチンオキシダーゼなどの複素環オキシダーゼ、ビオチン/アビジン、スピン標識、バクテリオファージ標識、安定なフリーラジカル類、ならびにこれらに類するもの。

【０２６０】

Ｆ．薬学的製剤

本明細書に記載の抗C1s抗体の薬学的製剤は、所望の純度を有する抗体を、1つまたは複数の任意の薬学的に許容される担体 (Remington's Pharmaceutical Sciences 16th edition, Osol, A. Ed. (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。薬学的に許容される担体は、概して、用いられる際の用量および濃度ではレシピエントに対して非毒性であり、これらに限定されるものではないが、以下のものを含む：リン酸塩、クエン酸塩、および他の有機酸などの緩衝液；アスコルビン酸およびメチオニンを含む、抗酸化剤；保存料（オクタデシルジメチルベンジル塩化アンモニウム；塩化ヘキサメトニウム；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；メチルまたはプロピルパラベンなどのアルキルパラベン；カテコール；レソルシノール；シクロヘキサノール；3-ペンタノール；およびm-クレゾールなど）；低分子（約10残基未満）ポリペプチド；血清アルブミン、ゼラチン、または免疫グロブリンなどのタンパク質；ポリビニルピロリドンなどの親水性ポリマー；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、またはリジンなどのアミノ酸；グルコース、マンノース、またはデキストリンを含む、単糖、二糖、および他の炭水化物；EDTAなどのキレート剤；スクロース、マンニトール、トレハロース、ソルビトールなどの、砂糖類；ナトリウムなどの塩形成対イオン類；金属錯体（例えば、Zn-タンパク質錯体）；および/またはポリエチレングリコール (PEG) などの非イオン系表面活性剤。本明細書の例示的な薬学的に許容される担体は、さらに、可溶性中性活性型ヒアルロニダーゼ糖タンパク質 (sHASEGP)（例えば、rHuPH20 (HYLENEX（登録商標）、Baxter International, Inc.) などのヒト可溶性PH-20ヒアルロニダーゼ糖タンパク質）などの間質性薬剤分散剤を含む。特定の例示的sHASEGPおよびその使用方法は（rHuPH20を含む）、米国特許出願公開第2005/0260186号および第2006/0104968号に記載されている。一局面において、sHASEGPは、コンドロイチナーゼなどの1つまたは複数の追加的なグリコサミノグリカナーゼと組み合わせられる。

【０２６１】

例示的な凍結乾燥抗体製剤は、米国特許第6,267,958号に記載されている。水溶液抗体製剤は、米国特許第6,171,586号およびWO2006/044908に記載のものを含み、後者の製剤はヒスチジン－アセテート緩衝液を含んでいる。

【０２６２】

本明細書の製剤は、治療される特定の適応症のために必要であれば1つより多くの有効成分を含んでもよい。互いに悪影響を与えあわない相補的な活性を伴うものが好ましい。例えば、併用療法に用いられる製剤をさらに提供することが望ましい場合がある。このような有効成分は、意図された目的のために有効である量で、好適に組み合わせられて存在する。

【０２６３】

有効成分は、例えば液滴形成（コアセルベーション）手法によってまたは界面重合によって調製されたマイクロカプセル（それぞれ、例えば、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（メタクリル酸メチル）マイクロカプセル）に取り込まれてもよいし、コロイド状薬剤送達システム（例えば、リポソーム、アルブミン小球体、マイクロエマルション、ナノ粒子、およびナノカプセル）に取り込まれてもよいし、マクロエマルションに取り込まれてもよい。このような手法は、Remington's Pharmaceutical Sciences 16th edition, Osol, A. Ed. (1980) に開示されている。

【０２６４】

徐放性製剤を調製してもよい。徐放性製剤の好適な例は、抗体を含んだ固体疎水性ポリマーの半透過性マトリクスを含み、当該マトリクスは例えばフィルムまたはマイクロカプセルなどの造形品の形態である。

【０２６５】

生体内 (in vivo) 投与のために使用される製剤は、通常無菌である。無菌状態は、例えば滅菌ろ過膜を通して濾過することなどにより、容易に達成される。

【０２６６】

Ｇ．治療的方法および治療用組成物

本明細書で提供される抗C1s抗体のいずれも、治療的な方法において使用されてよい。

一局面において、医薬品としての使用のための、抗C1s抗体が提供される。さらなる局面において、補体介在性の疾患または障害の治療における使用のための、抗C1s抗体が提供される。特定の態様において、治療方法における使用のための、抗C1s抗体が提供される。特定の態様において、本発明は、補体介在性の疾患または障害を有する個体を治療する方法であって、当該個体に抗C1s抗体の有効量を投与する工程を含む方法における使用のための、抗C1s抗体を提供する。このような態様の1つにおいて、方法は、当該個体に少なくとも1つの追加治療剤の有効量を投与する工程を、さらに含む。上記態様の任意のものによる「個体」は、好適にはヒトである。

【０２６７】

さらなる態様において、本発明は、補体介在性の疾患または障害の治療に使用するための抗C1s抗体を提供する。さらなる態様において、本発明の抗C1s抗体は、血漿からのC1sのクリアランスの増強に使用するためのものであり得る。さらなる態様において、本発明の抗C1s抗体は、血漿からのC1r2s2のクリアランスの増強に使用するためのものであり得る。さらなる態様において、本発明の抗C1s抗体は、血漿からのC1qのクリアランスを増強せずに血漿からのC1r2s2のクリアランスを増強するのに使用するためのものであり得る。いくつかの例において、当該抗体は古典的補体経路の成分を阻害し、いくつかの例において、古典的補体経路の成分はC1sである。特定の態様において、本発明は、補体介在性の疾患または障害の治療方法において使用するための抗C1s抗体を提供する。特定の態様において、本発明は、血漿からのC1sのクリアランスを増強する方法において使用するための抗C1s抗体を提供する。特定の態様において、本発明は、血漿からのC1r2s2のクリアランスを増強する方法において使用するための抗C1s抗体を提供する。特定の態様において、本発明は、血漿からのC1qのクリアランスを増強せずに血漿からのC1r2s2のクリアランスを増強するのに使用するための抗C1s抗体を提供する。特定の態様において、本発明は、古典的補体経路の成分を阻害する方法において使用するための抗C1s抗体を提供し、いくつかの例において、古典的補体経路の成分はC1sである。上記態様のいずれかにおいて、「個体」は好ましくはヒトである。

【０２６８】

一局面において、本開示は、補体活性化を調整する方法を提供する。いくつかの態様において、この方法は、例えばC4b2aの産生を減少させるよう、補体の活性化を阻害する。いくつかの態様において、本開示は、補体介在性の疾患または障害を有する個体において補体の活性化を調整する方法であって、本開示の抗C1s抗体または本開示の薬学的組成物を個体に投与する工程を含み、薬学的組成物が本開示の抗C1s抗体を含む、方法を提供する。いくつかの態様において、そのような方法は、補体活性化を阻害する。いくつかの態

様において、個体は哺乳動物である。いくつかの態様において、個体はヒトである。投与は、本明細書で開示されるものを含む、当業者に公知の任意の経路によるものであり得る。いくつかの態様において、投与は静脈内投与または皮下投与である。いくつかの態様において、投与は髄腔内投与である。

【０２６９】

補体介在性の疾患または障害は、個体の細胞、組織、または体液における異常な量の補体C1sまたは異常なレベルの補体C1sタンパク質分解活性によって特徴づけられる障害である。

【０２７０】

いくつかの例において、補体介在性の疾患または障害は、細胞、組織、または体液における増加した（通常より多い）量のC1sまたは上昇したレベルの補体C1s活性の存在によって特徴づけられる。例えば、いくつかの例において、補体介在性の疾患または障害は、脳組織および/または脳脊髄液における増加した量のC1sおよび/または上昇した活性のC1sの存在によって特徴づけられる。細胞、組織、または体液における「通常より多い」量のC1sは、その細胞、組織、または体液中のC1sの量が通常の対照レベルよりも多い、例えば、同じ年齢グループの個体または個体集団の通常の対照レベルよりも多いことを示す。細胞、組織、または体液における「通常よりも高い」レベルのC1s活性は、その細胞、組織、または体液においてC1sによりもたらされるタンパク質分解切断が通常の対照レベルよりも高い、例えば、同じ年齢グループの個体または個体集団の通常の対照レベルよりも高いことを示す。いくつかの例において、補体介在性の疾患または障害を有する個体は、そのような疾患または障害の1つまたは複数のさらなる症状を示す。

【０２７１】

他の例において、補体介在性の疾患または障害は、細胞、組織、または体液における通常よりも少ない量のC1sまたは低いレベルの補体C1s活性の存在によって特徴づけられる。例えば、いくつかの例において、補体介在性の疾患または障害は、脳組織および/または脳脊髄液における少ない量のC1sおよび/または低い活性のC1sの存在によって特徴づけられる。細胞、組織、または体液における「通常よりも少ない」量のC1sは、その細胞、組織、または体液におけるC1sの量が通常の対照レベルよりも少ない、例えば、同じ年齢グループの個体または個体集団の通常の対照レベルよりも少ないことを示す。細胞、組織、または体液における「通常よりも低い」レベルのC1s活性は、その細胞、組織、または体液においてC1sによりもたらされるタンパク質分解切断が通常の対照レベルよりも低い、例えば、同じ年齢グループの個体または個体集団の通常の対照レベルよりも低いことを示す。いくつかの例において、補体介在性の疾患または障害を有する個体は、そのような疾患または障害の1つまたは複数のさらなる症状を示す。

【０２７２】

補体介在性の疾患または障害は、補体C1sの量または活性が個体において疾患または障害を引き起こす程度のものである疾患または障害である。いくつかの態様において、補体介在性の疾患または障害は、自己免疫疾患、がん、血液疾患、感染症、炎症疾患、虚血・再灌流障害、神経変性疾患、神経変性障害、眼疾患、腎臓疾患、移植片拒絶、血管疾患、および血管炎疾患からなる群より選択される。いくつかの態様において、補体介在性の疾患または障害は、自己免疫疾患である。いくつかの態様において、補体介在性の疾患または障害は、がんである。いくつかの態様において、補体介在性の疾患または障害は、感染疾患である。いくつかの態様において、補体介在性の疾患または障害は、炎症疾患である。いくつかの態様において、補体介在性の疾患または障害は、血液疾患である。いくつかの態様において、補体介在性の疾患または障害は、虚血・再灌流疾患である。いくつかの態様において、補体介在性の疾患または障害は、眼疾患である。いくつかの態様において、補体介在性の疾患または障害は、腎臓疾患である。いくつかの態様において、補体介在性の疾患または障害は、移植片拒絶である。いくつかの態様において、補体介在性の疾患または障害は、抗体による移植片拒絶である。いくつかの態様において、補体介在性の疾患または障害は、血管疾患である。いくつかの態様において、補体介在性の疾患または障

害は、血管炎疾患である。いくつかの態様において、補体介在性の疾患または障害は、神経変性疾患または障害である。いくつかの態様において、補体介在性の疾患は、神経変性疾患である。いくつかの態様において、補体介在性の障害は、神経変性障害である。いくつかの態様において、補体介在性の疾患または障害は、タウロパチーである。

【０２７３】

補体介在性の疾患または障害の例には、加齢性黄斑変性症、アルツハイマー病、筋萎縮性側索硬化症、アナフィラキシー、嗜銀顆粒性認知症、関節炎（例えば、関節リウマチ）、喘息、アテローム性動脈硬化症、非典型溶血性尿毒症症候群、自己免疫疾患、バラケル・シモンズ症候群（Barraquer-Simons syndrome）、ベーチェット病、英国型アミロイドアンギオパチー、水疱性類天疱瘡、バージャー病、C1q腎症、がん、劇症型抗リン脂質抗体症候群、脳アミロイドアンギオパチー、寒冷凝集素症、大脳皮質基底核変性症、クロイツフェルト・ヤコブ病、クローン病、クリオグロブリン血症性血管炎、拳闘家痴呆、レビー小体型認知症（DLB）、石灰化を伴うびまん性神経原線維変化病、円板状エリテマトーデス、ダウン症候群、巣状分節性糸球体硬化症、形式的思考障害、前頭側頭型認知症（FTD）、17番染色体に連鎖しパーキンソニズムを伴う前頭側頭型認知症、前頭側頭葉変性症、ゲルストマン・ストロイスラー・シャインカー症候群、ギラン・バレー症候群、ハラーホルデン・スパッツ症候群、溶血性尿毒症症候群、遺伝性血管浮腫、低ホスファターゼ症、特発性肺炎症候群、免疫複合体病、封入体筋炎、感染症（例えば、細菌（例えば、髄膜炎菌もしくはレンサ球菌）、ウイルス（例えば、ヒト免疫不全ウイルス（HIV））または他の感染病原体によって引き起こされる疾患）、炎症疾患、虚血/再灌流障害、軽度認知障害、免疫性血小板減少性紫斑病（ITP）、モリブデン補因子欠損症（MoCD）A型、膜性増殖性糸球体腎炎（MPGN）I、膜性増殖性糸球体腎炎（MPGN）II（デンスデポジット病）、膜性腎炎、多発梗塞性認知症、ループス（全身性エリテマトーデス（SLE））、糸球体腎炎、川崎病、多巣性運動ニューロパチー、多発性硬化症、多系統萎縮症、重症筋無力症、心筋梗塞、筋強直性ジストロフィー、視神経脊髄炎、ニーマン・ピック病C型、神経原線維変化を呈する非グアム型運動ニューロン疾患、パーキンソン病、認知症を伴うパーキンソン病、発作性夜間血色素尿症、尋常性天疱瘡、ピック病、脳炎後パーキンソン病、多発筋炎、プリオンタンパク質脳アミロイド血管症、進行性皮質下グリオーシス、進行性核上性麻痺、乾癬、敗血症、志賀毒素産生性大腸菌（E.coli）（STEC）-HuS、脊髄性筋萎縮症、脳卒中、亜急性硬化性全脳炎、神経原線維型認知症、移植片拒絶、血管炎（例えば、ANCA関連血管炎）、ヴェグナー肉芽腫症、鎌状赤血球症、クリオグロブリン血症、混合性クリオグロブリン血症、本態性混合性クリオグロブリン血症、II型混合性クリオグロブリン血症、III型混合性クリオグロブリン血症、腎炎、薬物性血小板減少症、ループス腎炎、水疱性類天疱瘡、後天性表皮水疱症、遅発性溶血性輸血反応、低補体血症性蕁麻疹様血管炎症候群、偽水晶体性水疱性角膜症、および血小板輸血不応状態が含まれるが、これらに限定されない。

【０２７４】

アルツハイマー病および特定の形態の前頭側頭型認知症（ピック病、散発性前頭側頭型認知症、および17番染色体に連鎖しパーキンソニズムを伴う前頭側頭型認知症）は、最も一般的な形態のタウロパチーである。したがって、本発明は、タウロパチーがアルツハイマー病、ピック病、散発性前頭側頭型認知症、および17番染色体に連鎖しパーキンソニズムを伴う前頭側頭型認知症である上記の任意の方法に関連する。他のタウロパチーには、進行性核上性麻痺（PSP）、大脳皮質基底核変性症（CBD）、および亜急性硬化性全脳炎が含まれるが、これらに限定されない。

【０２７５】

神経変性タウロパチーには、アルツハイマー病、筋萎縮性側索硬化症/パーキンソン認知症複合、嗜銀顆粒性認知症、英国型アミロイドアンギオパチー、脳アミロイドアンギオパチー、大脳皮質基底核変性症、クロイツフェルト・ヤコブ病、拳闘家痴呆、石灰化を伴うびまん性神経原線維変化病、ダウン症候群、前頭側頭型認知症、17番染色体に連鎖しパーキンソニズムを伴う前頭側頭型認知症、前頭側頭葉変性症、ゲルストマン・ストロイスラ

ー・シャインカー症候群、ハラーホルデン・スパッツ症候群、封入体筋炎、多系統萎縮症、筋強直性ジストロフィー、ニーマン・ピック病C型、神経原線維変化を呈する非グアム型運動ニューロン疾患、ピック病、脳炎後パーキンソン病、プリオンタンパク質脳アミロイド血管症、進行性皮質下グリオーシス、進行性核上性麻痺、亜急性硬化性全脳炎、神経原線維型認知症、多発梗塞性認知症、虚血性脳卒中、慢性外傷性脳症（CTE）、外傷性脳損傷（TBI）、および脳卒中が含まれる。

【０２７６】

本開示はまた、シヌクレイノパチー、例えば、パーキンソン病（PD）；レビー小体型認知症（DLB）；多系統萎縮症（MSA）等を治療する方法を提供する。例えば、認知症を伴うPD（PDD）が、本開示の方法を用いて治療され得る。

【０２７７】

いくつかの態様において、補体介在性の疾患または障害は、アルツハイマー病を含む。いくつかの態様において、補体介在性の疾患または障害は、パーキンソン病を含む。いくつかの態様において、補体介在性の疾患または障害は、移植片拒絶を含む、いくつかの態様において、補体介在性の疾患または障害は、抗体による移植片拒絶である。

【０２７８】

いくつかの態様において、本開示の抗C1s抗体は、個体において補体介在性の疾患または障害の少なくとも1つの症状の発症を防ぐまたは遅らせる。いくつかの態様において、本開示の抗C1s抗体は、個体において補体介在性の疾患または障害の少なくとも1つの症状を軽減するまたは除去する。症状の例には、自己免疫疾患、がん、血液疾患、感染疾患、炎症疾患、虚血・再灌流疾患、神経変性疾患、神経変性障害、腎臓疾患、移植片拒絶、眼疾患、血管疾患または血管炎疾患に関連する症状が含まれるが、これらに限定されない。症状は、神経学的症状、例えば、認知機能障害、記憶障害、運動機能喪失等であり得る。症状はまた、個体の細胞、組織、または体液中のC1sタンパク質の活性であり得る。症状はまた、個体の細胞、組織、または体液中での補体活性化の程度であり得る。

【０２７９】

いくつかの態様において、個体への本開示の抗C1s抗体の投与は、個体の細胞、組織、または体液において補体活性化を調整する。いくつかの態様において、個体への本開示の抗C1s抗体の投与は、個体の細胞、組織、または体液において補体活性化を阻害する。例えば、いくつかの態様において、本開示の抗C1s抗体は、補体介在性の疾患または障害を有する個体に単独療法としてまたは併用療法において1つまたは複数の用量で投与された場合、抗C1s抗体を用いた処置の前の個体における補体活性化と比較して、個体における補体活性化を少なくとも約10%、少なくとも約15%、少なくとも約20%、少なくとも約25%、少なくとも約30%、少なくとも約40%、少なくとも約50%、少なくとも約60%、少なくとも約70%、少なくとも約80%、少なくとも約90%、または90%超阻害する。

【０２８０】

いくつかの態様において、本開示の抗C1s抗体は、赤血球へのC3沈着を減少させる、例えば、いくつかの態様において、本開示の抗C1s抗体は、RBCへのC3b、iC3b等の沈着を減少させる。いくつかの態様において、本開示の抗C1s抗体は、補体介在性の赤血球溶解を阻害する。

【０２８１】

いくつかの態様において、本開示の抗C1s抗体は、血小板へのC3の沈着を減少させる。例えば、いくつかの態様において、本開示の抗C1s抗体は、血小板へのC3b、iC3b等の沈着を減少させる。

【０２８２】

いくつかの態様において、本開示の抗C1s抗体の投与は、以下からなる群より選択されるアウトカムをもたらす：（a）補体活性化の低減、（b）認知機能の改善、（c）ニューロン喪失の低減、（d）ニューロンにおけるリン酸化Tauレベルの低下、（e）グリア細胞活性化の低減、（f）リンパ球浸潤の低減、（g）マクロファージ浸潤の低減、（h）抗体沈着の減少、（i）グリア細胞喪失の低減、（j）オリゴデンドロサイト喪失の低減、（k）

樹状細胞浸潤の低減、（l）好中球浸潤の低減、（m）赤血球溶解の低減、（n）赤血球食作用の低減、（o）血小板食作用の低減、（p）血小板溶解の低減、（q）移植片生存の改善、（r）マクロファージにより媒介される食作用の低減、（s）視力の改善、（t）運動制御の改善、（u）血栓形成の改善、（v）凝固の改善、（w）腎臓機能の改善、（x）抗体により媒介される補体活性化の低減、（y）自己抗体により媒介される補体活性化の低減、（z）貧血の改善、（aa）脱髄の低減、（ab）好酸球増加の低減、（ac）赤血球細胞へのC3沈着の減少（例えば、RBCへのC3b、iC3b等の沈着の減少）、および（ad）血小板へのC3沈着の減少（例えば、血小板へのC3b、iC3b等の沈着の減少）、および（ae）アナフィラトキシン産生の低減、（af）自己抗体により媒介される水疱形成の低減、（ag）自己抗体により誘導される掻痒の低減、（ah）自己抗体により誘導されるエリテマトーデスの低減、（ai）自己抗体により媒介される皮膚びらんの低減、（aj）輸血反応に起因する赤血球破壊の低減、（ak）同種抗体に起因する赤血球溶解の低減、（al）輸血反応に起因する溶血の低減、（am）同種抗体により媒介される血小板溶解の低減、（an）輸血反応に起因する血小板溶解の低減、（ao）マスト細胞活性化の低減、（ap）マスト細胞ヒスタミン放出の低減、（aq）血管透過性の低減、（ar）浮腫の低減、（as）移植片内皮への補体沈着の減少、（at）移植片内皮におけるアナフィラトキシン生成の低減、（au）真皮表皮接合部の分離の低減、（av）真皮表皮接合部におけるアナフィラトキシン生成の低減、（aw）移植片内皮における同種抗体により媒介される補体活性化の低減、（ax）抗体により媒介される神経筋接合部の喪失の低減、（ay）神経筋接合部における補体活性化の低減、（az）神経筋接合部におけるアナフィラトキシン生成の低減、（ba）神経筋接合部における補体沈着の減少、（bb）麻痺の低減、（be）しびれの低減、（bd）膀胱制御の向上、（be）排便管理の向上、（bf）自己抗体に関連する死の減少、ならびに(bg)自己抗体に関連する病的状態の低減。

【０２８３】

いくつかの態様において、本開示の抗C1s抗体は、補体介在性の疾患または障害を有する個体に単独療法としてまたは併用療法において1つまたは複数の用量で投与された場合、以下のアウトカム：（a）補体活性化；（b）認知機能の低下；（c）ニューロンの喪失；（d）ニューロンにおけるリン酸化Tauレベル；（e）グリア細胞活性化；（f）リンパ球浸潤；（g）マクロファージ浸潤；（h）抗体沈着；（i）グリア細胞の喪失；（j）オリゴデンドロサイトの喪失；（k）樹状細胞浸潤；（l）好中球浸潤；（m）赤血球溶解；（n）赤血球食作用；（o）血小板食作用；（p）血小板溶解；（q）移植片拒絶；（r）マクロファージにより媒介される食作用；（s）視力低下；（t）抗体により媒介される補体活性化；（u）自己抗体により媒介される補体活性化；（v）脱髄；（w）好酸球増加のうちの1つまたは複数を、抗C1s抗体を用いた処置の前の個体におけるアウトカムのレベルまたは程度と比較して、少なくとも約10%、少なくとも約15%、少なくとも約20%、少なくとも約25%、少なくとも約30%、少なくとも約40%、少なくとも約50%、少なくとも約60%、少なくとも約70%、少なくとも約80%、少なくとも約90%、または90%超、低減するのに有効である。

【０２８４】

いくつかの態様において、本開示の抗C1s抗体は、補体介在性の疾患または障害を有する個体に単独療法としてまたは併用療法において1つまたは複数の用量で投与された場合、以下のアウトカム：a）認知機能；b）移植片生存；c）視力；d）運動制御；e）血栓形成；f）凝固；g）腎臓機能、およびh）ヘマトクリット（赤血球数）のうちの1つまたは複数を、抗C1s抗体を用いた処置の前の個体におけるアウトカムのレベルまたは程度と比較して、少なくとも約10%、少なくとも約15%、少なくとも約20%、少なくとも約25%、少なくとも約30%、少なくとも約40%、少なくとも約50%、少なくとも約60%、少なくとも約70%、少なくとも約80%、少なくとも約90%、または90%超、改善するのに有効である。

【０２８５】

いくつかの態様において、個体への本開示の抗C1s抗体の投与は、個体における補体活

性化を低減する。例えば、いくつかの態様において、本開示の抗C1s抗体は、補体介在性の疾患または障害を有する個体に単独療法としてまたは併用療法において1つまたは複数の用量で投与された場合、個体における補体活性化を、抗C1s抗体を用いた処置の前の個体における補体活性化と比較して、少なくとも約10%、少なくとも約15%、少なくとも約20%、少なくとも約25%、少なくとも約30%、少なくとも約40%、少なくとも約50%、少なくとも約60%、少なくとも約70%、少なくとも約80%、少なくとも約90%、または90%超、低減する。

【０２８６】

いくつかの態様において、本開示の抗C1s抗体の投与は、個体における認知機能を改善する。例えば、いくつかの態様において、本開示の抗C1s抗体は、補体介在性の疾患または障害を有する個体に単独療法としてまたは併用療法において1つまたは複数の用量で投与された場合、個体における認知機能を、抗C1s抗体を用いた処置の前の個体における認知機能と比較して、少なくとも約10%、少なくとも約15%、少なくとも約20%、少なくとも約25%、少なくとも約30%、少なくとも約40%、少なくとも約50%、少なくとも約60%、少なくとも約70%、少なくとも約80%、少なくとも約90%、または90%超、改善する。

【０２８７】

いくつかの態様において、本開示の抗C1s抗体の投与は、個体における認知機能の低下率を低下させる。例えば、いくつかの態様において、本開示の抗C1s抗体は、補体介在性の疾患または障害を有する個体に単独療法としてまたは併用療法において1つまたは複数の用量で投与された場合、個体における認知機能の低下率を、抗C1s抗体を用いた処置の前の個体における認知機能の低下率と比較して、少なくとも約10%、少なくとも約15%、少なくとも約20%、少なくとも約25%、少なくとも約30%、少なくとも約40%、少なくとも約50%、少なくとも約60%、少なくとも約70%、少なくとも約80%、少なくとも約90%、または90%超、低下させる。

【０２８８】

いくつかの態様において、個体への本開示の抗C1s抗体の投与は、個体におけるニューロン喪失を低減する。例えば、いくつかの態様において、本開示の抗C1s抗体は、補体介在性の疾患または障害を有する個体に単独療法としてまたは併用療法において1つまたは複数の用量で投与された場合、個体におけるニューロン喪失を、抗C1s抗体を用いた処置の前の個体におけるニューロン喪失と比較して、少なくとも約10%、少なくとも約15%、少なくとも約20%、少なくとも約25%、少なくとも約30%、少なくとも約40%、少なくとも約50%、少なくとも約60%、少なくとも約70%、少なくとも約80%、少なくとも約90%、または90%超、低減する。

【０２８９】

いくつかの態様において、個体への本開示の抗C1s抗体の投与は、個体におけるリン酸化Tauレベルを低下させる。例えば、いくつかの態様において、本開示の抗C1s抗体は、補体介在性の疾患または障害を有する個体に単独療法としてまたは併用療法において1つまたは複数の用量で投与された場合、個体におけるリン酸化Tauを、抗C1s抗体を用いた処置の前の個体におけるリン酸化Tauレベルと比較して、少なくとも約10%、少なくとも約15%、少なくとも約20%、少なくとも約25%、少なくとも約30%、少なくとも約40%、少なくとも約50%、少なくとも約60%、少なくとも約70%、少なくとも約80%、少なくとも約90%、または90%超、減少させる。

【０２９０】

いくつかの態様において、個体への本開示の抗C1s抗体の投与は、個体におけるグリア細胞活性化を低減する。例えば、いくつかの態様において、本開示の抗C1s抗体は、補体介在性の疾患または障害を有する個体に単独療法としてまたは併用療法において1つまたは複数の用量で投与された場合、個体におけるグリア活性化を、抗C1s抗体を用いた処置の前の個体におけるグリア細胞活性化と比較して、少なくとも約10%、少なくとも約15%、少なくとも約20%、少なくとも約25%、少なくとも約30%、少なくとも約40%、少

なくとも約50%、少なくとも約60%、少なくとも約70%、少なくとも約80%、少なくとも約90%、または90%超、低減する。いくつかの態様において、グリア細胞は、アストロサイトまたはミクログリアである。

【０２９１】

いくつかの態様において、個体への本開示の抗C1s抗体の投与は、個体におけるリンパ球浸潤を低減する。例えば、いくつかの態様において、本開示の抗C1s抗体は、補体介在性の疾患または障害を有する個体に単独療法としてまたは併用療法において1つまたは複数の用量で投与された場合、個体におけるリンパ球浸潤を、抗C1s抗体を用いた処置の前の個体におけるリンパ球浸潤と比較して、少なくとも約10%、少なくとも約15%、少なくとも約20%、少なくとも約25%、少なくとも約30%、少なくとも約40%、少なくとも約50%、少なくとも約60%、少なくとも約70%、少なくとも約80%、少なくとも約90%、または90%超、低減する。

【０２９２】

いくつかの態様において、個体への本開示の抗C1s抗体の投与は、個体におけるマクロファージ浸潤を低減する。例えば、いくつかの態様において、本開示の抗C1s抗体は、補体介在性の疾患または障害を有する個体に単独療法としてまたは併用療法において1つまたは複数の用量で投与された場合、個体におけるマクロファージ浸潤を、抗C1s抗体を用いた処置の前の個体におけるマクロファージ浸潤と比較して、少なくとも約10%、少なくとも約15%、少なくとも約20%、少なくとも約25%、少なくとも約30%、少なくとも約40%、少なくとも約50%、少なくとも約60%、少なくとも約70%、少なくとも約80%、少なくとも約90%、または90%超、低減する。

【０２９３】

いくつかの態様において、個体への本開示の抗C1s抗体の投与は、個体における抗体沈着を減少させる。例えば、いくつかの態様において、本開示の抗C1s抗体は、補体介在性の疾患または障害を有する個体に単独療法としてまたは併用療法において1つまたは複数の用量で投与された場合、個体における抗体沈着を、抗C1s抗体を用いた処置の前の個体における抗体沈着と比較して、少なくとも約10%、少なくとも約15%、少なくとも約20%、少なくとも約25%、少なくとも約30%、少なくとも約40%、少なくとも約50%、少なくとも約60%、少なくとも約70%、少なくとも約80%、少なくとも約90%、または90%超、減少させる。

【０２９４】

いくつかの態様において、個体への本開示の抗C1s抗体の投与は、個体におけるアナフィラトキシン（例えば、C3a、C4a、C5a）産生を減少させる。例えば、いくつかの態様において、本開示の抗C1s抗体は、補体介在性の疾患または障害を有する個体に単独療法としてまたは併用療法において1つまたは複数の用量で投与された場合、個体におけるアナフィラトキシン産生を、抗C1s抗体を用いた処置の前の個体におけるアナフィラトキシン産生レベルと比較して、少なくとも約10%、少なくとも約15%、少なくとも約20%、少なくとも約25%、少なくとも約30%、少なくとも約40%、少なくとも約50%、少なくとも約60%、少なくとも約70%、少なくとも約80%、少なくとも約90%、または90%超、減少させる。

【０２９５】

いくつかの態様において、本開示は、補体介在性の疾患または障害を有する個体を治療するための、本開示の抗C1s抗体または本開示の抗C1s抗体および薬学的に許容される賦形剤を含む薬学的組成物の使用を提供する。いくつかの態様において、本開示は、補体介在性の疾患または障害を有する個体を治療するための、本開示の抗C1s抗体の使用を提供する。いくつかの態様において、本開示は、補体介在性の疾患または障害を有する個体を治療するための、本開示の抗C1s抗体および薬学的に許容される賦形剤を含む薬学的組成物の使用を提供する。

【０２９６】

いくつかの態様において、本開示は、補体介在性の疾患または障害を有する個体を治療

するための医薬品の製造における、本開示の抗C1s抗体の使用を提供する。
【０２９７】
いくつかの態様において、本開示は、補体活性化を阻害するための、本開示の抗C1s抗体または本開示の抗C1s抗体および薬学的に許容される賦形剤を含む薬学的組成物の使用を提供する。いくつかの態様において、本開示は、補体介在性の疾患または障害を有する個体において補体活性化を阻害するための、本開示の抗C1s抗体または本開示の抗C1s抗体および薬学的に許容される賦形剤を含む薬学的組成物の使用を提供する。いくつかの態様において、本開示は、補体介在性の疾患または障害を有する個体において補体活性化を阻害するための、本開示の抗C1s抗体の使用を提供する。いくつかの態様において、本開示は、補体介在性の疾患または障害を有する個体において補体活性化を阻害するための、本開示の抗C1s抗体および薬学的に許容される賦形剤を含む薬学的組成物の使用を提供する。
【０２９８】
いくつかの態様において、本開示は、補体活性化を調整するための医薬品の製造における、本開示の抗C1s抗体の使用を提供する。いくつかの態様において、該医薬品は、補体活性化を阻害する。いくつかの態様において、該医薬品は、補体介在性の疾患または障害を有する個体において補体活性化を阻害する。
【０２９９】
いくつかの態様において、本開示は、薬物療法において使用するための、本開示の抗C1s抗体または本開示の抗C1s抗体および薬学的に許容される賦形剤を含む薬学的組成物を提供する。いくつかの態様において、本開示は、薬物療法において使用するための、本開示の抗C1s抗体を提供する。いくつかの態様において、本開示は、薬物療法において使用するための、本開示の抗C1s抗体および薬学的に許容される賦形剤を含む薬学的組成物を提供する。
【０３００】
いくつかの態様において、本開示は、補体介在性の疾患または障害を有する個体を治療するための、本開示の抗C1s抗体または本開示の抗C1s抗体および薬学的に許容される賦形剤を含む薬学的組成物を提供する。いくつかの態様において、本開示は、補体介在性の疾患または障害を有する個体を治療するための、本開示の抗C1s抗体を提供する。いくつかの態様において、本開示は、補体介在性の疾患または障害を有する個体を治療するための、本開示の抗C1s抗体および薬学的に許容される賦形剤を含む薬学的組成物を提供する。
【０３０１】
いくつかの態様において、本開示は、補体活性化を調整するための、本開示の抗C1s抗体または本開示の抗C1s抗体および薬学的に許容される賦形剤を含む薬学的組成物を提供する。いくつかの態様において、本開示は、補体活性化を調整するための、本開示の抗C1s抗体を提供する。いくつかの態様において、本開示は、補体活性化を調整するための、本開示の抗C1s抗体および薬学的に許容される賦形剤を含む薬学的組成物を提供する。いくつかの態様において、抗C1s抗体は、補体活性化を阻害する。
【０３０２】
さらなる局面において、本発明は、医薬品の製造または調製における抗C1s抗体の使用を提供する。一態様において、医薬品は、補体介在性の疾患または障害の治療のためのものである。さらなる態様において、医薬品は、補体介在性の疾患または障害を有する個体に有効量の該医薬品を投与する工程を含む補体介在性の疾患または障害の治療方法において使用するためのものである。1つのそのような態様において、該方法はさらに、有効量の少なくとも1つのさらなる治療剤（例えば後述のもの）を個体に投与する工程を含む。さらなる態様において、医薬品は、血漿からのC1sのクリアランスを増強（または血漿からC1sを除去）するのに使用するためのものである。さらなる態様において、医薬品は、血漿からのC1r2s2のクリアランスを増強（または血漿からC1r2s2を除去）するのに使用するためのものである。さらなる態様において、医薬品は、血漿からのC1qのクリアランスを増強（または血漿からC1qを除去）せずに血漿からのC1r2s2のクリアランスを増強

（または血漿からC1r2s2を除去）するのに使用するためのものである。さらなる態様において、医薬品は、古典的補体経路の成分の阻害において使用するためのものであり、いくつかの例において、古典的補体経路の成分はC1sである。

【０３０３】

さらなる態様において、医薬品は、有効量の該医薬品を個体に投与する工程を含む、補体介在性の疾患または障害を有する個体の治療方法において使用するためのものである。上記態様のいずれかにおいて、「個体」はヒトであり得る。

【０３０４】

さらなる局面において、本発明は、補体介在性の疾患または障害を治療する方法を提供する。一態様において、該方法は、そのような補体介在性の疾患または障害を有する個体に有効量の抗C1s抗体を投与する工程を含む。1つのそのような態様において、該方法はさらに、有効量の少なくとも1つのさらなる治療剤（後述されるもの）を個体に投与する工程を含む。上記態様のいずれかにおいて、「個体」はヒトであり得る。

【０３０５】

さらなる局面において、本発明は、個体において血漿からのC1sのクリアランスを増強（または血漿からC1sを除去）する方法を提供する。さらなる局面において、本発明は、個体において血漿からのC1r2s2のクリアランスを増強（または血漿からC1r2s2を除去）する方法を提供する。さらなる態様において、本発明は、個体において血漿からのC1qのクリアランスを増強（または血漿からC1qを除去）せずに血漿からのC1r2s2のクリアランスを増強（または血漿からC1r2s2を除去）する方法を提供する。いくつかの例において、本発明は、個体において古典的補体経路の成分を阻害する方法を提供し、いくつかの例において、古典的補体経路の成分はC1sである。一態様において、「個体」はヒトである。

【０３０６】

さらなる局面において、本発明は、例えば上記の治療方法のいずれかにおいて使用するための、本明細書で提供される抗C1s抗体のいずれかを含む薬学的製剤を提供する。一態様において、薬学的製剤は、本明細書で提供される抗C1s抗体のいずれかと、薬学的に許容される担体とを含む。別の態様において、薬学的製剤は、本明細書で提供される抗C1s抗体のいずれかと、少なくとも1つのさらなる治療剤（例えば後述されるもの）とを含む。

【０３０７】

本発明の抗体は、療法において、単独または他の剤との組み合わせのどちらでも使用され得る。例えば、本発明の抗体は、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。

【０３０８】

上述したような併用療法は、併用投与（2つ以上の治療剤が、同じまたは別々の製剤に含まれる）、および個別投与を包含し、個別投与の場合、本発明の抗体の投与が追加治療剤の投与に先立って、と同時に、および/または、続いて、行われ得る。一態様において、抗C1s抗体の投与および追加治療剤の投与は、互いに、約1か月以内、または約1、2、または3週間以内、または約1、2、3、4、5、または6日以内に行われる。本発明の抗体は、放射線療法と組み合わせて用いることができる。

【０３０９】

本発明の抗体（および、任意の追加治療剤）は、非経口投与、肺内投与、および経鼻投与、また局所的処置のために望まれる場合は病巣内投与を含む、任意の好適な手段によって投与され得る。非経口注入は、筋肉内、静脈内、動脈内、腹腔内、または皮下投与を含む。投与は、投与が短期か長期かに一部応じて、例えば、静脈内注射または皮下注射などの注射によるなど、任意の好適な経路によってなされ得る。これらに限定されるものではないが、単回投与または種々の時点にわたる反復投与、ボーラス投与、および、パルス注入を含む、種々の投与スケジュールが本明細書の考慮の内である。

【０３１０】

本発明の抗体は、優良医療規範 (good medical practice) に一致したやり方で、製剤

化され、投与され、また投与される。この観点から考慮されるべきファクターは、治療されているその特定の障害、治療されているその特定の哺乳動物、個々の患者の臨床症状、障害の原因、剤を送達する部位、投与方法、投与のスケジュール、および医療従事者に公知の他のファクターを含む。抗体は、必ずしもそうでなくてもよいが、任意で、問題の障害を予防するまたは治療するために現に使用されている1つまたは複数の剤とともに、製剤化される。そのような他の剤の有効量は、製剤中に存在する抗体の量、障害または治療のタイプ、および上で論じた他のファクターに依存する。これらは通常、本明細書で述べたのと同じ用量および投与経路で、または本明細書で述べた用量の約1から99%で、または経験的/臨床的に適切と判断される任意の用量および任意の経路で、使用される。

【０３１１】

疾患の予防または治療のために、本発明の抗体の適切な用量（単独で用いられるときまたは1つまたは複数の他の追加治療剤とともに用いられるとき）は、治療される疾患のタイプ、抗体のタイプ、疾患の重症度および経過、抗体が予防的目的で投与されるのか治療的目的で投与されるのか、薬歴、患者の臨床歴および抗体に対する応答、ならびに、主治医の裁量に依存するだろう。抗体は、患者に対して、1回で、または一連の処置にわたって、好適に投与される。疾患のタイプおよび重症度に応じて、例えば、1回または複数回の別々の投与によるにしても連続注入によるにしても、約1μg/kgから15 mg/kg（例えば、0.1mg/kg～10mg/kg）の抗体が、患者に対する投与のための最初の候補用量とされ得る。1つの典型的な1日用量は、上述したファクターに依存して、約1μg/kgから100mg/kg以上まで、幅があってもよい。数日またはより長くにわたる繰り返しの投与の場合、状況に応じて、治療は通常疾患症状の所望の抑制が起きるまで維持される。抗体の1つの例示的な用量は、約0.05mg/kg から約 10mg/kgの範囲内である。よって、約0.5mg/kg、2.0mg/kg、4.0mg/kg、もしくは 10mg/kgの1つまたは複数の用量（またはこれらの任意の組み合わせ）が、患者に投与されてもよい。このような用量は、断続的に、例えば1週間毎にまたは3週間毎に（例えば、患者が約2から約20、または例えば約6用量の抗体を受けるように）、投与されてもよい。高い初回負荷用量の後に、1回または複数回の低用量が投与されてもよい。しかしながら、他の投与レジメンが有用な場合もある。この療法の経過は、従来の手法および測定法によって、容易にモニタリングされる。

【０３１２】

上述の製剤または治療的方法のいずれについても、抗C1s抗体の代わりにまたはそれに追加して、本発明のイムノコンジュゲートを用いて実施してもよいことが、理解されよう。

【０３１３】

Ｈ．製品

本発明の別の局面において、上述の障害の治療、予防、および/または診断に有用な器材を含んだ製品が、提供される。製品は、容器、および当該容器上のラベルまたは当該容器に付属する添付文書を含む。好ましい容器としては、例えば、ボトル、バイアル、シリンジ、IV溶液バッグなどが含まれる。容器類は、ガラスやプラスチックなどの、様々な材料から形成されていてよい。容器は組成物を単体で保持してもよいし、症状の治療、予防、および/または診断のために有効な別の組成物と組み合わせて保持してもよく、また、無菌的なアクセスポートを有していてもよい（例えば、容器は、皮下注射針によって突き通すことのできるストッパーを有する静脈内投与用溶液バッグまたはバイアルであってよい）。組成物中の少なくとも1つの有効成分は、本発明の抗体である。ラベルまたは添付文書は、組成物が選ばれた症状を治療するために使用されるものであることを示す。さらに製品は、(a)第一の容器であって、その中に収められた本発明の抗体を含む組成物を伴う、第一の容器；および、(b)第二の容器であって、その中に収められたさらなる細胞傷害剤またはそれ以外で治療的な剤を含む組成物を伴う、第二の容器を含んでもよい。本発明のこの態様における製品は、さらに、組成物が特定の症状を治療するために使用され得ることを示す、添付文書を含んでもよい。あるいはまたは加えて、製品はさらに、注射用制菌水（BWFI)、リン酸緩衝生理食塩水、リンガー溶液、およびデキストロース溶液などの、薬学的に許容される緩衝液を含む、第二の（または第三の）容器を含んでもよい。他の緩衝液、

希釈剤、フィルター、針、およびシリンジなどの、他の商業的観点またはユーザの立場から望ましい器材をさらに含んでもよい。

【０３１４】

上述の製品のいずれについても、抗C1s抗体の代わりにまたはそれに追加して、本発明のイムノコンジュゲートを含んでもよいことが、理解されよう。

【実施例】

【０３１５】

ＩＩＩ．実施例

以下は、本発明の方法および組成物の実施例である。上述の一般的な記載に照らし、種々の他の態様が実施され得ることが、理解されるであろう。

【０３１６】

前述の発明は、明確な理解を助ける目的のもと、実例および例示を用いて詳細に記載したが、本明細書における記載および例示は、本発明の範囲を限定するものと解釈されるべきではない。本明細書で引用したすべての特許文献および科学文献の開示は、その全体にわたって、参照により明示的に本明細書に組み入れられる。

【０３１７】

実施例1：タンパク質の発現および精製

実施例1.1：組み換えヒトC1r2s2 Flag/His四量体の発現および精製

発現および精製に使用した配列は、GGGGSリンカーおよび8×ヒスチジンタグをC末端に有するヒトC1s（NCBIリファレンス配列：NP_958850.1）（SEQ ID NO:7）、ならびにGGGGSリンカーおよびFLAGタグをC末端に有するヒトC1r（NCBIリファレンス配列：NP_001724.3）である。ヒトC1r配列は、R463Q S654A変異を有する（Kardos et. al. J Immunol. 2001 Nov 1;167(9):5202-8）（SEQ ID NO:8）。組み換えヒトC1r2s2 Flag/His四量体の発現のために、FreeStyle293-F細胞株（Thermo Fisher）を用いてヒトC1s-HisおよびヒトC1r-Flagを一過的に共発現させた。組み換えヒトC1r2s2 Flag/His四量体を発現する培養上清を、抗Flag M2アフィニティ樹脂（Sigma）に供し、Flagペプチド（Sigma）を用いて溶出させた。組み換えヒトC1r2s2 Flag/His四量体を含む画分をIMACカラム（GE Healthcare）に供し、イミダゾール勾配を用いて溶出させた。組み換えヒトC1r2s2 Flag/His四量体を含む溶出画分を収集し、濃縮し、続いて、1×TBS、2 mM $CaCl_2$緩衝液で平衡化されたSuperdex 200ゲルろ過カラム（GE Healthcare）に供した。次いで組み換えヒトC1r2s2 Flag/His四量体を含む画分をプールし、濃縮し、-80℃で保管した。

【０３１８】

実施例1.2：組み換えカニクイザルC1r2s2 Flag/His四量体の発現および精製

発現および精製に使用した配列は、GGGGSリンカーおよびFLAGタグをC末端に有するカニクイザルC1s（SEQ ID NO:9）、ならびにGGGGSリンカーおよび8×ヒスチジンタグをC末端に有するカニクイザルC1rである。カニクイザルC1r配列は、R463Q S654A変異を有する（SEQ ID NO:10）。組み換えカニクイザルC1r2s2 His/FLAG四量体の発現のために、FreeStyle293-F細胞株（Thermo Fisher）を用いてカニクイザルC1s-FLAGおよびカニクイザルC1r-Hisを一過的に共発現させた。組み換えカニクイザルC1r2s2 His/FLAG四量体を発現する培養上清を、抗Flag M2アフィニティ樹脂（Sigma）に供し、Flagペプチド（Sigma）を用いて溶出させた。組み換えカニクイザルC1r2s2 His/Flag四量体を含む画分をIMACカラム（GE Healthcare）に供し、イミダゾール勾配を用いて溶出させた。組み換えカニクイザルC1r2s2 His/Flag四量体を含む溶出画分を収集し、濃縮し、続いて、1×TBS、2 mM $CaCl_2$緩衝液で平衡化されたSuperdex 200ゲルろ過カラム（GE Healthcare）に供した。次いで組み換えカニクイザルC1r2s2 His/Flag四量体を含む画分をプールし、濃縮し、-80℃で保管した。

【０３１９】

実施例1.3：組み換えヒトC1s CCP1-CCP2-SP-Hisの発現および精製

発現および精製に使用した配列は、CAMPATH-1Hシグナル配列MGWSCIILFLVATATG

VHS（SEQ ID NO:11）をN末端に有するヒトC1s CCP1-CCP2-SP M292-D688配列（NCBIリファレンス配列：NP_958850.1）である。ヒトC1s CCP1-CCP2-SPは、GGGGSリンカーに連結された8×ヒスチジンタグをC末端に有する（SEQ ID NO:12）。C末端にHisタグを有する組み換えヒトC1s CCP1-CCP2-SPを、FreeStyle293-F細胞株（Thermo Fisher）を用いて一過的に発現させた。組み換えヒトC1s CCP1-CCP2-SP-Hisを発現する培養上清を、HisTrap excelカラム（GE Healthcare）に供し、イミダゾール勾配を用いて溶出させた。組み換えヒトC1s CCP1-CCP2-SP-Hisタンパク質を含む画分を収集し、続いて1×TBSで平衡化されたSuperdex 200ゲルろ過カラム（GE Healthcare）に供した。次いで組み換えヒトC1s CCP1-CCP2-SP-Hisタンパク質を含む画分をプールし、濃縮し、-80℃で保管した。

【０３２０】

実施例1.4：組み換えヒトC1s-Flagの発現および精製

発現および精製に使用した配列は、GGGGSリンカーおよびFlagタグをC末端に有するヒトC1s（NCBIリファレンス配列：NP_958850.1）である（SEQ ID NO:13）。組み換えヒトC1s-Flagを、Expi 293F細胞（Thermo Fisher）を用いて一過的に発現させた。組み換えヒトC1s-Flagを発現する培養上清を、抗Flag M2アフィニティ樹脂（Sigma)を充填したカラムに供し、Flagペプチド（Sigma）を含む1×TBS緩衝液を用いて溶出させた。組み換えヒトC1s-Flagを含む画分を収集し、濃縮し、続いて、1×TBS緩衝液で平衡化されたSuperdex 200ゲルろ過カラム（GE Healthcare）に供した。次いで組み換えヒトC1s-Flagを含む画分をプールし、濃縮し、-80℃で保管した。

【０３２１】

実施例1.5：組み換えカニクイザルC1s-Flagの発現および精製

発現および精製に使用した配列は、GGGGSリンカーおよびFlagタグをC末端に有するカニクイザルC1sである（SEQ ID NO:9）。組み換えカニクイザルC1s-Flagを、FreeStyle 293-F細胞株（Thermo Fisher）を用いて一過的に発現させた。組み換えカニクイザルC1s-Flagを発現する培養上清を、抗Flag M2アフィニティ樹脂（Sigma)を充填したカラムに供し、Flagペプチド（Sigma）を含む1×TBS緩衝液を用いて溶出させた。組み換えカニクイザルC1s-Flagを含む画分を収集し、濃縮し、続いて、1×TBS緩衝液で平衡化されたSuperdex 200ゲルろ過カラム（GE Healthcare）に供した。次いで組み換えカニクイザルC1s-Flagを含む画分をプールし、濃縮し、-80℃で保管した。

【０３２２】

実施例1.6：切断型ヒトC1s M1～V173+N174Q-Flagの発現および精製

発現および精製に使用した配列は、ヒトC1s（NCBIリファレンス配列：NP_958850.1）のアミノ酸M1～V173である。Tsai et. al.（Mol Immunol. 1997 Dec;34(18):1273-80）に記載される構築物にしたがい、N174Qの変異を付加した。そのC末端に、GGGGSリンカーおよびFlagタグ（SEQ ID NO:13）を付加した。組み換えヒトC1s M1～V173+N174Q-Flagを、FreeStyle293-F細胞（Thermo Fisher）を用いて一過的に発現させた。組み換えヒトC1s M1～V173+N174Q-Flagを発現する培養上清を、抗Flag M2アフィニティ樹脂（Sigma)を充填したカラムに供し、Flagペプチド（Sigma）を含む1X PBS緩衝液を用いて溶出させた。組み換えヒトC1s M1～V173+N174Q-Flagを含む画分を収集し、4℃で保管し、還元型ウェスタンブロットにおける抗体結合の分析のために使用した。

【０３２３】

実施例1.7：組み換えヒトC1r CCP1-CCP2-SP-Flagの発現および精製

発現および精製に使用した配列は、CAMPATH-1Hシグナル配列MGWSCIILFLVATATGVHS（SEQ ID NO:11）をN末端に、およびGGGGSリンカーに連結されたFlagタグをC末端に有するヒトC1r CCP1-CCP2-SP I307-D705（NCBIリファレンス配列：NP_001724.3）である。ヒトC1r配列は、R463Q S654A変異を有する（Kardos et. al. J Immunol. 2001 Nov 1;167(9):5202-8）（SEQ ID NO:167）。C末端にFlagタグを有する組み換えヒトC1r CCP1-CCP2-SPを、FreeStyle293-F細胞株（Thermo Fisher）を用い

て一過的に発現させた。組み換えヒトC1r CCP1-CCP2-SPを発現する培養上清を、抗FlagM2アフィニティ樹脂（Sigma)に供し、Flagペプチド（Sigma）を用いて溶出させた。組み換えヒトC1r CCP1-CCP2-SP-Flagタンパク質を含む画分を収集し、続いて1×TBSで平衡化されたSuperdex 200ゲルろ過カラム（GE Healthcare）に供した。次いでヒトC1r CCP1-CCP2-SP-Flagタンパク質を含む画分をプールし、濃縮し、-80℃で保管した。

【０３２４】

実施例2：抗C1s抗体および抗C1r2s2抗体の作製

実施例2.1：抗C1s抗体の作製

抗C1s抗体は、以下のようにして選択およびアッセイした：

天然型ヒトC1sプロ酵素（CompTech、A103）を用いて6匹のNZWウサギに皮内免疫を行った。2ヶ月の期間にわたって4回または5回の繰り返し投与を行い、その後、血液および脾臓を収集した。B細胞選択のために、組み換えヒトC1r2s2 Flag/His四量体、ビオチニル化天然型ヒトC1sプロ酵素、ビオチニル化組み換えヒトC1s-His、ビオチニル化組み換えヒトC1s CCP1-CCP2-SP-Hisおよび組み換えカニクイザルC1s-Flagを調製し使用した。天然型ヒトC1sプロ酵素、組み換えヒトC1r2s2 Flag/His四量体、組み換えヒトC1s-Hisまたは組み換えカニクイザルC1s-Flagに結合することができるB細胞を染色し、セルソーターを用いて選別し、その後、WO2016098356A1に記載されている手順にしたがってプレーティングおよび培養を行った。培養後、さらなる解析のためにB細胞培養上清を収集し、B細胞ペレットを凍結保存した。

B細胞培養上清を用いるELISAによって、組み換えヒトC1r2s2 Flag/His四量体および組み換えカニクイザルC1s-Flagへの結合を評価した。組み換えヒトC1r2s2 Flag/His四量体および組み換えカニクイザルC1s-Flagに結合することができるB細胞を、エピトープ分析のために選択した。

エピトープの特徴づけは、ELISAにより行った。上記の組み換えヒトC1s CCP1-CCP2-SP-Hisをこの特徴づけに使用した。B細胞株を、C1s CUB1-EGF-CUB2結合体またはC1s CCP1-CCP2-SP結合体に分類した。

C1s CUB1-EGF-CUB2結合体の中和活性を、選択されたB細胞上清を用いる中和アッセイにより試験した。中和アッセイの手順は、後述のRBC溶解アッセイにしたがった。良好な中和活性を有するB細胞が好ましく、遺伝子クローニングのために選択した。

【０３２５】

実施例2.2：抗C1r2s2抗体の作製

抗C1r2s2抗体は、以下のようにして選択およびアッセイした：

上記の組み換えヒトC1r2s2 Flag/His四量体を用いて3匹のNZWウサギに皮内免疫を行った。2ヶ月の期間にわたって5回の繰り返し投与を行い、その後、血液および脾臓を収集した。組み換えヒトC1r2s2 Flag/His四量体に結合することができるが組み換えヒトC1s CCP1-CCP2-SP-Hisに結合することができないB細胞、またはヒトC1r2s2 Flag/His四量体に結合することができるB細胞を染色し、セルソーターを用いて選別し、その後、WO2016098356A1に記載されている手順にしたがってプレーティングおよび培養を行った。培養後、さらなる解析のためにB細胞培養上清を収集し、B細胞ペレットを凍結保存した。

B細胞培養上清を用いるELISAによって、組み換えヒトC1r2s2 Flag/His四量体および組み換えカニクイザルC1r2s2 His/Flag四量体への結合を評価した。交差反応性を有するB細胞を、エピトープ分析のために選択した。

ELISAベースのエピトープの特徴づけを行った。上記の組み換えヒトC1s CCP1-CCP2-SP-His、組み換えヒトC1s-Flagおよび組み換えカニクイザルC1s-Flagを調製し、この特徴づけに使用した。C1s CUB1-EGF-CUB2結合体であるB細胞株およびC1r結合体であるB細胞株を同定した。さらに、C1r結合体を、組み換えヒトC1r CCP1-CCP2-SP-FLAGに対する結合能に基づいて、C1r CUB1-EGF-CUB2結合体およびC1r CCP1-CCP2-SP結合体に分類する。

C1s CUB1-EGF-CUB2結合体およびC1r CUB1-EGF-CUB2結合体の中和活性を、選択

されたB細胞上清を用いる中和アッセイにより試験した。中和アッセイの手順は、後述のRBC溶解アッセイにしたがった。良好な中和活性を有するB細胞が好ましく、遺伝子クローニングのために選択した。

【０３２６】

実施例2.3.1：C1s CUB1-EGF-CUB2結合体の遺伝子クローニングおよび配列決定

所望の結合特異性および機能を有する選択されたB細胞株のRNAを、ZR-96 Quick-RNAキット（ZYMO RESEARCH、カタログ番号R1053）を用いて、凍結保存された細胞ペレットから精製した。これらをCOS0221～0681と命名した。選択された株における抗体重鎖可変領域をコードするDNAを逆転写PCRにより増幅し、IgG4重鎖定常領域（SEQ ID NO:14）、SG136重鎖定常領域（SEQ ID NO:15）および／またはSG1148重鎖定常領域（SEQ ID NO:16）をコードするDNAに連結した。SG136 Fcは、C1qおよびFcγ受容体の両方への結合性を低減する変異を含んでいる。SG1148 Fcは、Fcγ受容体への結合性を維持しつつC1qへの結合性を低減する変異を含んでいる。抗体軽鎖可変領域をコードするDNAも逆転写PCRにより増幅し、kOMC軽鎖定常領域（SEQ ID NO:17）をコードするDNAに連結した。後述のさらなる評価を通じて、5つのクローン（COS0448、COS0499、COS0547、COS0631およびCOS0637）を、それらの結合能力、特異性および機能に基づいて選択した。1つのクローン（COS0583：VH、SEQ ID NO:22；VL、SEQ ID NO:29）を、アッセイ対照として使用した。これら5つの抗体のVH、VL、HVR-H1、HVR-H2、HVR-H3、HVR-L1、HVR-L2およびHVR-L3の配列ID番号を表2に示す。

【０３２７】

【表２】

抗体名	SEQ ID NO:							
	VH	VL	HVR-H1	HVR-H2	HVR-H3	HVR-L1	HVR-L2	HVR-L3
COS0448	19	26	32	33	34	35	36	37
COS0499	20	27	38	39	40	41	42	43
COS0547	21	28	44	45	46	47	48	49
COS0631	23	30	50	51	52	53	54	55
COS0637	24	31	56	57	58	59	60	61

【０３２８】

実施例2.3.2：C1r CUB1-EGF-CUB2結合体の遺伝子クローニングおよび配列決定

所望の結合特異性および機能を有する選択されたB細胞株のRNAを、ZR-96 Quick-RNAキット（ZYMO RESEARCH、カタログ番号R1053）を用いて、凍結保存された細胞ペレットから精製した。これらをCOR0001～0094、0189～0376と命名した。選択された株における抗体重鎖可変領域をコードするDNAを逆転写PCRにより増幅し、IgG4重鎖定常領域（SEQ ID NO:14）、SG136重鎖定常領域（SEQ ID NO:15）および／またはSG1148重鎖定常領域（SEQ ID NO:16）をコードするDNAに連結した。SG136 Fcは、C1qおよびFcγ受容体の両方への結合性を低減する変異を含んでいる。SG1148 Fcは、Fcγ受容体への結合性を維持しつつC1qへの結合性を低減する変異を含んでいる。抗体軽鎖可変領域をコードするDNAも逆転写PCRにより増幅し、kOMC軽鎖定常領域（SEQ ID NO:17）をコードするDNAに連結した。後述のさらなる評価を通じて、8つのクローン（COR0011、COR0058、COR0067、COR0205、COR0208、COR0212、COR0278およびCOR0338）を、それらの結合能力、特異性および機能に基づいて選択した。これら8つの抗体のVH、VL、HVR-H1、HVR-H2、HVR-H3、HVR-L1、HVR-L2およびHVR-L3の配列ID番号を表3に示す。

【０３２９】
【表３】

抗体名	SEQ ID NO:							
	VH	VL	HVR-H1	HVR-H2	HVR-H3	HVR-L1	HVR-L2	HVR-L3
COR0011	103	111	119	127	135	143	151	159
COR0058	104	112	120	128	136	144	152	160
COR0067	105	113	121	129	137	145	153	161
COR0205	106	114	122	130	138	146	154	162
COR0208	107	115	123	131	139	147	155	163
COR0212	108	116	124	132	140	148	156	164
COR0278	109	117	125	133	141	149	157	165
COR0338	110	118	126	134	142	150	158	166

【０３３０】
実施例2.4：モノクローナル抗体の発現および精製
組み換え抗体を、製造元の指示にしたがいExpi 293-F細胞およびExpifectamine 293（Life technologies）を用いて一過的に発現させた。培養上清または組み換え抗体をスクリーニングに使用した。組み換え抗体を、プロテインA（GE Healthcare）を用いて精製し、PBS、TBSまたはHis緩衝液（20 mMヒスチジン、150 mM NaCl、pH 6.0）を用いて溶出させた。必要に応じて、サイズ排除クロマトグラフィーをさらに行い、高分子量および／または低分子量成分を除去した。
【０３３１】
実施例3：抗C1s抗体および抗C1r抗体の結合特異性
実施例3.1：抗C1s抗体の結合特異性（BIACORE（登録商標））
6つのC1s CUB1-EGF-CUB2結合体の結合特異性を、37℃でBIACORE（登録商標）T200機器（GE Healthcare）を用いて決定した。アミンカップリングキット（GE Healthcare）を用いて、CM4センサーチップのすべてのフローセル上に組み換えプロテインA/G（Pierce）を固定化した。抗体およびアナライトを、7(+)緩衝液（20 mM ACES、150 mM NaCl、1.2 mM $CaCl_2$、0.05% Tween 20、0.005% NaN_3、pH 7.4）で調製した。各抗体を、プロテインA/Gによってセンサー表面上に捕捉した。抗体捕捉量は、100共鳴単位（RU）を目標とした。（単量体として50 nMの）天然型プロ酵素ヒトC1s（Comptech A103）または（単量体として100 nMの）組み換えヒトC1s CCP1-CCP2-SP-Hisを注入し、その後に解離させた。サイクルごとに、10 mMグリシン-HCl pH 1.5を用いてセンサー表面を再生した。その結果が図1Aおよび1Bに示されている。6つのC1s CUB1-EGF-CUB2結合体は、天然型プロ酵素ヒトC1sに結合したが、CUB1-EGF-CUB2ドメインを欠く切断型タンパク質である組み換えヒトC1s CCP1-CCP2-SP-Hisには結合しなかった。
【０３３２】
実施例3.2：抗C1r抗体の結合特異性（BIACORE（登録商標））
ヒトC1r CUB1-EGF-CUB2結合体の結合特異性を、37℃でBiacore（登録商標）T200機器（GE Healthcare）を用いて決定する。アミンカップリングキット（GE Healthcare）を用いて、CM4センサーチップのすべてのフローセル上に組み換えプロテインA/G（Pierce）を固定化する。抗体およびアナライトを、7(+)緩衝液（20 mM ACES、150 mM NaCl、1.2 mM $CaCl_2$、0.05% Tween 20、1 mg/mL BSA（IgG非含有）、1 mg/mL CMD、0.005% NaN_3、pH 7.4）で調製する。各抗体を、プロテインA/Gによってセンサ

ー表面上に捕捉する。抗体捕捉量は、100共鳴単位（RU）を目標とする。（二量体として25 nMの）天然型ヒトC1r酵素（Comptech A102）または（単量体として50 nMの）組み換えヒトC1r CCP1-CCP2-SP-FLAGを注入し、その後に解離させる。サイクルごとに、10 mMグリシン-HCl pH 1.5を用いてセンサー表面を再生する。その結果が図11Aおよび11Bに示されている。C1r CUB1-EGF-CUB2結合体は、天然型ヒトC1r酵素に結合したが、C1rのCUB1-EGF-CUB2ドメインを欠く切断型タンパク質である組み換えヒトC1r CCP1-CCP2-SP-FLAGには結合しなかったことが判定され得る。

【０３３３】

実施例4：抗C1s抗体および抗C1r抗体のC1q解離促進機能の評価（BIACORE（登録商標）- C1r2s2固定化）

実施例4.1：抗C1s抗体のC1q解離促進機能の評価（BIACORE（登録商標）- C1r2s2固定化）

抗体のC1q解離促進機能を、37℃でBIACORE（登録商標）T200機器（GE Healthcare）を用いるC1r2s2捕捉法によって実証した。アミンカップリングキット（GE Healthcare）を用いて、CM4センサーチップのすべてのフローセル上に抗His抗体（GE Healthcare）を固定化した。抗体、組み換えヒトC1r2s2 Flag/His四量体および天然型ヒトC1q（Comptech A099）を、pH 7.4緩衝液（20 mM ACES、150 mM NaCl、1.2 mM $CaCl_2$、1 mg/mL BSA（IgG非含有）、1 mg/mL CMD、0.05% Tween 20、0.005% NaN_3、pH 7.4）で調製した。最初に、組み換えヒトC1r2s2 Flag/His四量体を、抗His抗体によってセンサー表面上に捕捉した（図2Aの「hc1r2s2」）。捕捉量は、200共鳴単位（RU）を目標にした。100 nMの天然型ヒトC1qを、200RUの捕捉となるよう注入し（図2Aの「hc1q」）、その後直ちに500 nMの抗体を10μL/分で1200秒間注入した。サイクルごとに、10 mMグリシン-HCl（pH 1.5）を用いてセンサー表面を再生した。その結果が、図2A～2Dに示されている。C1q解離促進機能を有する抗体については、センサーグラム1と2が交差する時点（「クロスオーバー時点」）の後は、センサーグラム2（長点線；図2Aおよび2Cの「C1r2s2+C1q+Ab」）の共鳴単位が、センサーグラム1（短点線：図2Aおよび2Cの「C1r2s2+C1q+緩衝液」）の共鳴単位よりも低くなる。センサーグラム2がセンサーグラム1と交差する時間に依拠して、COS0499を、高速解離促進変異体に分類した。COS0547、COS0631およびCOS0637は、比較的低速での解離促進を示した。COS0448は、高速解離促進と低速解離促進の間であった。

クロスオーバー時点は、抗体（Ab）応答（センサーグラム2）から緩衝液応答（センサーグラム1）を差し引くことによって特定され、その差の値が正から負に変わる時点のことをいう（表4）。Ab注入開始からの時間が、表4において「クロスオーバー時点」として示されている。

表中、COS448、COS499、COS0547、COS583、COS0631およびCOS0637は、代替的に、それぞれ、COS448oo(-SG1148)、COS499ee(-SG1148)、COS0547gg(-SG1148)、COS583gg(-SG1148)、COS0631gg(-SG1148)およびCOS0637cc(-SG1148)と呼ばれることがあることに留意されたい。

【０３３４】

【表４】
6つのC1s CUB1-EGF-CUB2結合体のクロスオーバー時点

抗体名	クロスオーバー時点（注入後）(秒)
COS0448oo-SG1148	168.9
COS0499ee-SG1148	61.9
COS0547gg-SG1148	542
COS0583gg-SG1148	ND
COS0631gg-SG1148	736.4
COS0637cc-SG1148	764

【０３３５】
実施例4.2：抗C1r抗体のC1q解離促進機能の評価（BIACORE（登録商標）- C1r2s2固定化）
抗体のC1q解離促進機能を、37℃でBIACORE（登録商標）T200機器（GE Healthcare）を用いるC1r2s2捕捉法によって実証する。アミンカップリングキット（GE Healthcare）を用いて、CM4センサーチップのすべてのフローセル上に抗His抗体（GE Healthcare）を固定化する。各抗体、組み換えヒトC1r2s2 Flag/His四量体および天然型ヒトC1q（Comptech A099）を、pH 7.4緩衝液（20 mM ACES、150 mM NaCl、1.2 mM $CaCl_2$、1 mg/mL BSA（IgG非含有）、1 mg/mL CMD、0.05% Tween 20、0.005% NaN_3、pH 7.4）で調製する。最初に、組み換えヒトC1r2s2 Flag/His四量体を、抗His抗体によってセンサー表面上に捕捉する（「hc1r2s2」）。捕捉量は、200共鳴単位（RU）を目標にする。100 nMの天然型ヒトC1qを、200RUの捕捉となるよう注入し（「hc1q」）、その後直ちに500 nMの抗体を10μL/分で1200秒間注入する。サイクルごとに、10 mMグリシン-HCl（pH 1.5）を用いてセンサー表面を再生する。その結果が、図12A～12Dに示されている。C1q解離促進機能を有する抗体については、センサーグラム1と2が交差する時点（「クロスオーバー時点」）の後は、（C1r2s2、C1q、および抗体が存在する）センサーグラム2の共鳴単位が、（C1r2s2、C1q、および緩衝液は存在するが、抗体は存在しない）センサーグラム1の共鳴単位よりも低くなる。
クロスオーバー時点は、抗体（Ab）応答（センサーグラム2）から緩衝液応答（センサーグラム1）を差し引くことによって特定され、その差の値が正から負に変わる時点のことをいう（表5）。
表中、COR0011、COR0058、COR0067、COR0205、COR208、COR0212、COR0278およびCOR0338は、代替的に、それぞれ、COR0011bb(-SG1148)、COR0058bb(-SG1148)、COR0067ff(-SG1148)、COR205gg(-SG1148)、COR208cc(-SG1148)、COR0212bb(-SG1148)、COR0278bb(-SG1148)およびCOR0338gg(-SG1148)と呼ばれることがあることに留意されたい。
【０３３６】

【表５】
8つのC1r CUB1-EGF-CUB2結合体のクロスオーバー時点

抗体名	クロスオーバー時点（注入後）(秒)
COR0011bb-SG1148	612.7
COR0058bb-SG1148	234.8
COR0067ff-SG1148	85.0
COR0205gg-SG1148	215.9
COR0208cc-SG1148	196.9
COR0212bb-SG1148	432.1
COR0278bb-SG1148	217.6
COR0338gg-SG1148	100.7

【０３３７】
実施例5：抗C1s抗体のC1q解離促進機能の評価（BIACORE（登録商標）- C1q固定化）
抗体のC1q解離促進機能を、37℃でBIACORE（登録商標）T200機器（GE Healthcare）を用いるC1q捕捉法によって実証した。抗体、組み換えヒトC1r2s2 Flag/His四量体およびビオチン化した天然型ヒトC1q（Comptech A099）を、pH 7.4緩衝液（20 mM ACES、150 mM NaCl、1.2 mM $CaCl_2$、1 mg/mL BSA（IgG非含有）、1 mg/mL CMD、0.05% Tween 20、0.005% NaN_3、pH 7.4）で調製した。最初に、ビオチン化した天然型ヒトC1qを、CAPセンサーチップ（GE Healthcare）の1つのフローセル上に捕捉した。捕捉量は、800～1000共鳴単位（RU）の範囲内を目標にした。300 nMの組み換えヒトC1r2s2 Flag/His四量体を注入し、続いて500 nMの抗体を10μL/分で180秒間、注入した。サイクルごとに、8Mグアニジン-HClと1M NaOHを3対1の比で用いてセンサー表面を再生した。BIACORE（登録商標）T200評価ソフトウェア、バージョン2.0（GE Healthcare）を用いることによるブランク減算後のセンサーグラムが図3に示されている。C1q解離促進機能を有する抗体は、C1r2s2の解離速度を向上させた、すなわち、図3において、「2: C1q+C1r2s2+Ab」（点線）曲線が、「1: C1q+C1r2s2+緩衝液」（実線）曲線の下になっている。COS0499は、高速解離促進変異体である。COS0631およびCOS0637は、低速解離促進変異体である。COS0448およびCOS0547は、中間速度の解離促進を示した。
【０３３８】
実施例6：抗C1s抗体のC1qブロッキング機能の評価（BIACORE（登録商標））
抗体による、C1r2s2へのC1q結合のブロッキングを評価するため、BIACORE（登録商標）T200機器（GE Healthcare）を用いて37℃でブロッキングアッセイを行った。アミンカップリングキット（GE Healthcare）を用いて、CM4センサーチップのすべてのフローセル上に抗His抗体（GE Healthcare）を固定化した。各抗体、組み換えヒトC1r2s2 Flag/His四量体および天然型ヒトC1qを、pH 7.4緩衝液（20 mM ACES、150 mM NaCl、1.2 mM $CaCl_2$、1 mg/mL BSA（IgG非含有）、1 mg/mL CMD、0.05% Tween 20、0.005% NaN_3、pH 7.4）で調製した。最初に、組み換えヒトC1r2s2 Flag/His四量体を、抗His抗体によってセンサー表面上に捕捉した（図4の「hc1r2s2」）。捕捉量は、200共鳴単位（RU）を目標にした。500 nMの抗体変異体を注入し（図4の「Ab」）、続いて100 nMの天然型ヒトC1qを注入した（図4の「hc1q」）。サイクルごとに、10 mMグリシン-HCl pH 1.5を用いてセンサー表面を再生した。C1qブロッキング機能を有する抗体は、C1r2s2への結合に関してC1qと競合するものである。その結果が、図4に示

されている。COS0448、CPS0631、COS0637およびCOS0499は、C1q結合に対して強いブロッキング機能を示した。COS0547において、部分的なブロッキングが観察された。他方、COS0583は、ブロッキング機能を示さなかった。

【０３３９】

実施例7：補体中和機能の評価（RBC溶解阻害）

抗体の中和機能を、以下のようにして評価した。感作されたヒツジまたはニワトリのいずれかのRBCを使用して、抗体の補体阻害活性を評価した。以下の方法は、ヒツジRBC溶解アッセイで使用したプロトコルを示している。ヒト血清（Biopredic）を、アッセイ緩衝液（0.05%BSAを含むHBSS Ca^{2+} Mg^{2+}）で8%に希釈し、40μg/mLに希釈した等量の抗体と共に37℃で3時間プレインキュベートした。対照として、ヒト血清を、アッセイ緩衝液のみまたは10 mM EDTAを含むアッセイ緩衝液と共にプレインキュベートした。抗ヒツジ赤血球間質抗体（Abcam）を用いてヒツジ赤血球（Innovative Research）を感作し、リンスし、計数し、アッセイ緩衝液中5×10^{8}細胞/mLに調整した。次いで、抗体／血清混合物を、等量の感作ヒツジ赤血球（Innovative Research）に添加し、37℃で1時間インキュベートして赤血球を溶解させた。この反応物中でのヒト血清および抗体の終濃度は、それぞれ、2%および10μg/mLであった。反応は、EDTAを含む冷アッセイ緩衝液で停止させた。この混合物を遠心分離して未溶解細胞をペレット化させ、その上清を取り出し、415 nmでの吸光度（OD）から630 nmでのODを差し引いたものを用いてヘモグロビンの放出を分析した。赤血球溶解の阻害率（%）を計算するため、0%阻害を、抗体を添加しなかった（緩衝液のみを添加した）条件と設定し、100%阻害を、終濃度5 mMのEDTAを添加した条件と設定した。図5および図13に示されるデータは、2つの複製ウェルからの平均＋SDを表している。

【０３４０】

実施例8：競合エピトープ分析

競合エピトープビニング実験を、Octet（Pall ForteBio）を用いるリアルタイム結合アッセイによって行った。ビオチニル化組み換えヒトC1s-Flagを調製し、ストレプトアビジンバイオセンサチップ（Pall ForteBio）上に捕捉させた。抗原を捕捉したチップを25マイクログラム（μg）/mLの第1抗体セット中に200秒間浸した。次いで、このチップを25μg/mLの第2抗体セットと共に200秒間インキュベートした。抗体解離の影響を除くために、第2抗体セットは、同じ濃度の第1抗体を含んでいる。結果を、DATA Analysis HTソフトウェア（Pall ForteBio, Version 10.0.1.7）によって分析した。第2抗体セットの反応が陽性であることは、エピトープが異なることを示し、第2抗体セットの反応が陰性であることは、エピトープが同じであることを示す。C1sのCUB1-EGF-CUB2ドメインに結合する抗体は、3つの「エピトープビン」に分類された。解離促進抗体は、エピトープビン1および2に入っている。図6において、「Ab1」は第1抗体セットを示し、「Ab2」は第2抗体セットを示し、文字「Y」および「N」は、各抗体対の同時結合の有／無を示す（すなわち、「無」は抗体が相互に競合し、「同時」には抗原に結合しないことを意味し、したがってそれらは同じエピトープビンに入れられる）。C1sのCCP1-CCP2-SPドメイン内で結合するがCUB1-EGF-CUB2ドメイン内では結合しないC1s CCP1-CCP2-SP結合体（VH：SEQ ID NO:18、VL：SEQ ID NO:25）を、対照抗体として添加した。

【０３４１】

実施例9：抗C1s CUB1-EGF-CUB2およびCCP1-CCP2-SP結合抗体を用いたマウスPK試験

<u>高速液体クロマトグラフィー-エレクトロスプレーイオン化トリプル四重極型質量分析法（LC/ESI-MS/MS）によるマウス血漿中の総ヒトC1sおよびC1q濃度の測定</u>

マウス血漿中のヒトC1sおよびC1qの総濃度を、LC/ESI-MS/MSによって測定した。検量線用標準試料は、ヒトC1s濃度が0.477、0.954、1.91、3.82、7.64、15.3、30.5マイクログラム（μg）/mL、ヒトC1q濃度が0.977、1.95、3.91、7.81、15.6、31.3および62.5μg/mLとなるように、それぞれ規定量のヒトC1sおよびC1qをマウス血漿で混合および希釈することによって調製した。2μLの検量線用標準試料および血漿サンプルを、25μLの、50 mmol/L炭酸水素アンモニウム中6.8 mol/L尿素、9.1 mmol/Lジチオ

トレイトールおよび0.4μg/mLリゾチーム（ニワトリ卵白）と混合し、56℃で45分間インキュベートした。その後、2μLの500 mmol/Lヨードアセトアミドを添加し、37℃で30分間、暗所でインキュベートした。次に、160μLの、50 mmol/L炭酸水素アンモニウム中0.5μg/mLトリプシン（Promega）を添加し、37℃で一晩インキュベートした。最後に、トリプシンを不活性化させるために、5μLの10%トリフルオロ酢酸を添加した。40μLの消化サンプルを、LC/ESI-MS/MSによる分析に供した。LC/ESI-MS/MSを、2D I-class UPLC（Waters）を備えたXevo TQ-Sトリプル四重極型質量分析装置（Waters）を用いて行った。ヒトC1s特異的ペプチドLLEVPEGRおよびヒトC1q特異的ペプチドIAFSATRを、Selected Reaction Monitoring（SRM）によりモニタリングした。SRMトランジションは、ヒトC1sの場合は[M+2H]2+（m/z 456.8）～y6イオン（m/z 686.3）、ヒトC1qの場合は[M+2H]2+（m/z 383.2）～y5イオン（m/z 581.3）とした。濃度に対してピーク面積をプロットし線形回帰（重みづけ：1/x2）により、検量線を作成した。分析用ソフトウェアMasslynxバージョン4.1（Waters）を用いて、この検量線からマウス血漿中のヒトC1sおよびC1q濃度を算出した。

【０３４２】

<u>マウスにおける抗C1s抗体投与後の総hC1sおよびhC1qの薬物動態の評価</u>

抗原を単独で（hC1q、組み換えC1r2s2、hC1qとrC1r2s2の混合物）または抗C1s抗体と共にマウス（CB17/Icr-Prkdc^{scid}/CrlCrlj: Charles River Japan）に投与した後に、実施例1で調製したhC1s、hC1q、および抗C1s抗体のin vivo薬物動態を評価した。3匹のマウスを各投与グループに割り当てた。

最初に、hC1q溶液（0.84 mg/mL）、rC1r2s2（0.47 mg/mL）、またはhC1qおよびrC1r2s2を含む混合物の溶液（それぞれ、0.84および0.47 mg/mL）を、10 mL/kgの用量でマウスに静脈内注射した。抗原溶液の投与後、抗C1s抗体溶液（2.5 mg/mL）を直ちに、同じ個体に同じ方法で投与した。

C1qおよびrC1r2s2の用量設定は、投与直後にヒト血漿中で生理学的濃度となるように設定した。この試験の間、両方の抗原に対して過剰な濃度となるように抗C1s抗体の用量を設定し、そのため血中では、ほぼすべてのhC1sが結合形態になると推定された。

投与から5分後、30分後、2時間後、7時間後、3日後、7日後、14日後、21日後、および28日後に血液を取得した。これらの血液を直ちに遠心分離し、血漿サンプルを分離した。各サンプル取得時点で、hC1sおよびhC1qの血漿中濃度を、LC/ESI-MS/MSによって測定した。hC1sおよびhC1qのPKパラメータを、ノンコンパートメントモデル解析によって算出した（Phoenix WinNonlinバージョン8.0、Certara）。

抗C1s抗体として以下の抗体をマウスに投与した（表2および7）：

1. COS0098bb-SG1148/SG136
2. COS0112gg-SG1148/SG136
3. COS0127bb-SG1148/SG136
4. COS0158ee-SG1148/SG136
5. COS0182hh-SG1148/SG136
6. COS0448oo-SG1148/SG136
7. COS0499ee-SG1148/SG136
8. COS0547gg-SG1148/SG136
9. COS0631gg-SG1148/SG136
10. COS0637cc-SG1148/SG136

マウスPK試験の結果を図7に示す。hC1qおよびhC1sのPKパラメータを表6に示す。5つのCCP1-CCP2-SP結合体（COS0098bb、COS0112gg、COS0127bb、COS0158eeおよびCOS0182hh）のhC1s CL比（SG1148/SG136）は、それぞれ、9.2、6.9、5.6、3.8および6.6であった。

5つのCUB1-EGF-CUB2結合体（COS0448oo、COS0499ee、COS0547gg、COS0631ggおよびCOS0637cc）のhC1s CL比（SG1148/SG136）は、それぞれ、4.2、5.8、3.6、13.6および28.0であった。この値は、Fcγ受容体を介したhC1s除去を促進する能

力を示している。COS0098bbおよびCOS0637ccは、それぞれ、CCP1-CCP2-SP結合体およびCUB1-EGF-CUB2結合体の中で最も高い能力を有するとみなされる。hC1q CL比（SG1148/SG136）を同様に評価した。すべてのCCP1-CCP2-SP結合体は、SG136の場合と比較しておよそ2倍、C1q除去を促進した。他方、CUB1-EGF-CUB2結合体は、COS0499eeを除いて、C1q CLに影響しなかった。これらの試験から、C1qの薬物動態に対するCUB1-EGF-CUB2結合体の影響は、CCP1-CCP2-SP結合体と比較して小さいと考えられる。

【０３４３】

【表６】

	C1s CL 比 (SG1148/SG136)	C1q CL 比 (SG1148/SG136)
COS0098bb	9.217	2.209
COS0112gg	6.928	1.890
COS0127bb	5.586	1.663
COS0158ee	3.796	1.811
COS0182hh	6.629	1.594
COS0448oo	4.244	1.130
COS0499ee	5.773	1.593
COS0547gg	3.596	0.955
COS0631gg	13.552	0.970
COS0637cc	27.991	1.070

【０３４４】

【表７】

抗体名	SEQ ID NO:							
	VH	VL	HVR-H1	HVR-H2	HVR-H3	HVR-L1	HVR-L2	HVR-L3
COS0098bb	62	67	72	73	74	87	88	89
COS0112gg	63	68	75	76	77	90	91	92
COS0127bb	64	69	78	79	80	93	94	95
COS0158ee	65	70	81	82	83	96	97	98
COS0182hh	66	71	84	85	86	99	100	101

定常領域名：SG1148（CH: SEQ ID NO:16およびCL: SEQ ID NO:102）
SG 136（CH: SEQ ID NO:15およびCL: SEQ ID NO:102）

【０３４５】

実施例10：時間依存的補体中和機能（RBC溶解阻害）

抗体の時間依存的中和機能を以下のようにして評価した。ヒト血清（Biopredic）を、アッセイ緩衝液（0.05%BSAを含むHBSS Ca^{2+} Mg^{2+}）で8%に希釈し、40μg/mLに希釈した等量の抗体と共に37℃で0.5、1または3時間プレインキュベートした。対照として、ヒト血清を、アッセイ緩衝液のみまたは10 mM EDTAを含むアッセイ緩衝液と共にプレインキュベートした。次いで、抗体／血清混合物を、等量の感作ヒツジ赤血球（Innovative Research）に添加し、37℃で1時間インキュベートして赤血球を溶解させた。この反応物中でのヒト血清および抗体の終濃度は、それぞれ、2%および10μg/mLであった。反応は、EDTAを含む冷アッセイ緩衝液で停止させた。この混合物を遠心分離して未溶解

細胞をペレット化させ、その上清を取り出し、415 nmでの吸光度（OD）から630 nmでのODを差し引いたものを用いてヘモグロビンの放出を分析した。阻害%およびヒツジ赤血球感作の分析を、先に実施例7に記載されたようにして行った。示されるデータは、2つの複製ウェルからの平均＋SDを表している。図8は、以下の抗C1s抗体によるヒト血清補体活性の時間依存的中和を示している：COS0448oo-SG1148；COS0499ee-SG1148；COS0631gg-SG1148；およびCOS0637cc-SG1148。

【０３４６】

実施例11：還元型および非還元型ウェスタンブロット分析における天然型ヒトプロ酵素C1sへの抗体の結合

天然型ヒトC1sプロ酵素タンパク質（CompTech）のウェスタンブロット分析を、非還元条件（NR）および還元条件（R）下で行った。C1sプロ酵素を、3-メルカプト-1,2-プロパンジオール（Wako）を含むまたは含まない95℃のSDS含有サンプルローディング緩衝液中で沸騰させた。各ブロットを、５μg/mLの濃度の示されている抗C1s抗体と共に室温で1時間インキュベートし、抗ヒトIgGアルカリホスファターゼ（Biorad）二次抗体により検出した。図9は、以下の抗体を用いた、還元および非還元ウェスタンブロット分析における天然型ヒトプロ酵素C1sに対する抗体の結合を示している：COS0448oo-SG136；COS0499ee-SG136；COS0547gg-SG136；COS0583gg-SG136；COS0631gg-SG136；およびCOS0637cc-SG136。

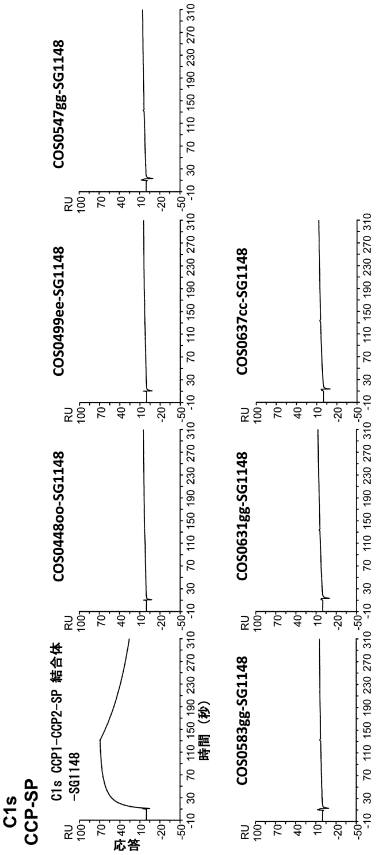
【０３４７】

実施例12：還元型ウェスタンブロットにおける切断型C1sタンパク質への抗体の結合

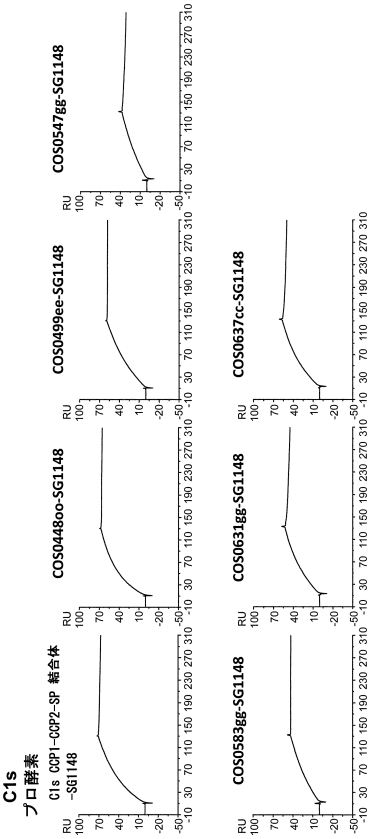
切断型ヒトC1sタンパク質に対する抗C1s抗体の結合を、以下のようにして還元型ウェスタンブロット分析により分析した。組み換え全長ヒトC1s-Flagおよび切断型ヒトC1s M1～V173+N174Q-Flagを、SDSおよび3-メルカプト-1,2-プロパンジオール（Wako）を含むサンプルローディング緩衝液中で沸騰させた。各ブロットを、１μg/mLの濃度の示された抗C1s抗体と共に室温で1時間インキュベートし、F(ab')2ヤギ抗ヒトIgG Fcアルカリホスファターゼ（ThermoFisher）二次抗体により検出した。対照として、抗Flag（M2）抗体（Sigma）アルカリホスファターゼを使用して組み換え全長および切断型ヒトC1sを検出した。FLという注記は全長C1s-Flagを示し、1 to 173は切断型ヒトC1s M1～V173+N174Q-Flagを示す。図10は、以下の抗体を用いた、還元型ウェスタンブロットにおける切断型C1sタンパク質に対する抗体の結合を示している： COS0448oo-SG136；COS0499ee-SG136；COS0583gg-SG136；COS0631gg-SG136；およびCOS0637cc-SG136。

【図面】

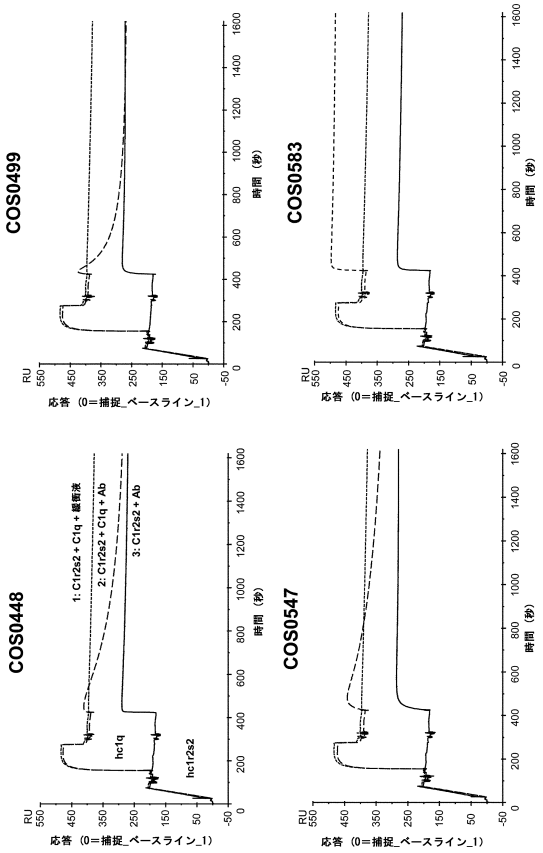
【図１Ａ】



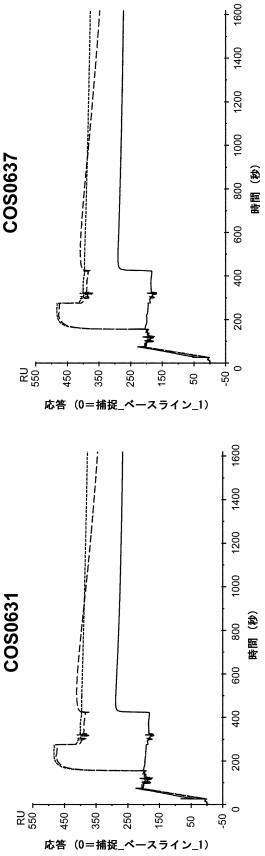
【図１Ｂ】



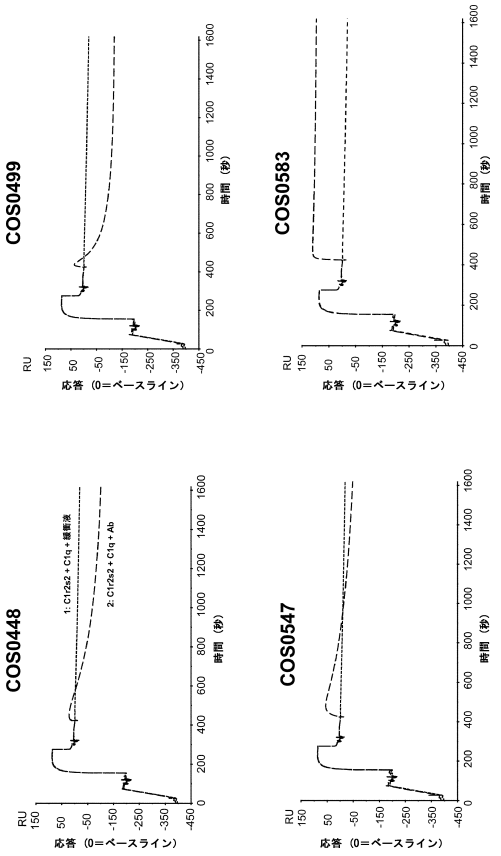
【図２Ａ】



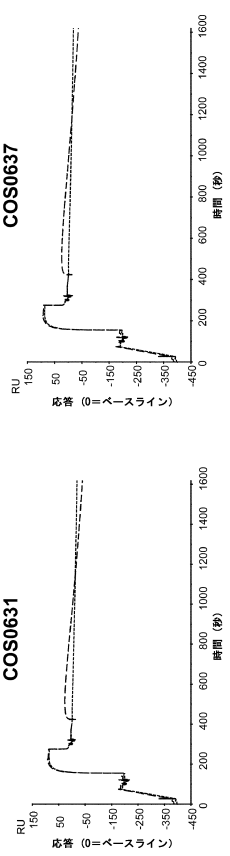
【図２Ｂ】



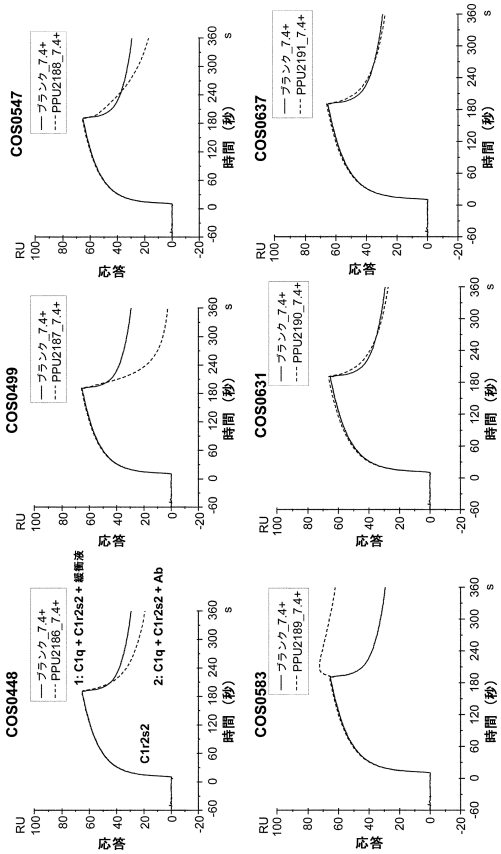
【図２Ｃ】


COS0499
COS0583
COS0448
COS0547
RU
応答（0＝ベースライン）
時間（秒）
1: C1r2s2 + C1q + 緩衝液
2: C1r2s2 + C1q + Ab

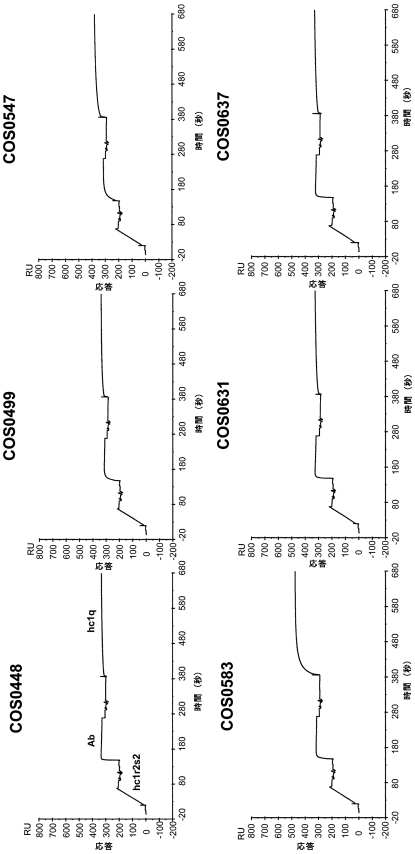
【図２Ｄ】


COS0637
COS0631
RU
応答（0＝ベースライン）
時間（秒）

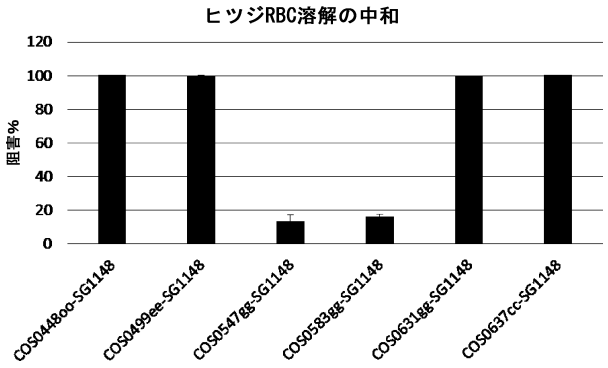
【図３】


COS0547
COS0637
COS0499
COS0631
COS0448
COS0583
ブランク_7.4+
PPU2188_7.4+
PPU2191_7.4+
PPU2187_7.4+
PPU2190_7.4+
PPU2186_7.4+
PPU2189_7.4+
1: C1q + C1r2s2 + 緩衝液
2: C1q + C1r2s2 + Ab
C1r2s2
RU
応答
時間（秒）
s

【図４】


COS0547
COS0637
COS0499
COS0631
COS0448
COS0583
hc1q
Ab
hc1r2s2
RU
応答
時間（秒）

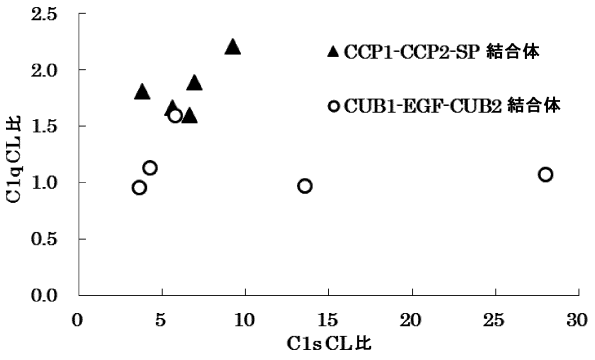
【図５】



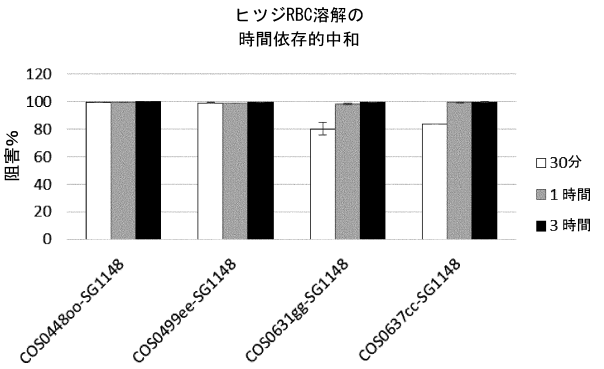
【図６】

		Ab2						
		COS0448	COS0631	COS0637	COS0499	COS0547	COS0583	C1s CCP1-CCP2-SP 結合体
Ab1	COS0448	N	N	N	Y	Y	Y	Y
	COS0631	N	N	N	Y	Y	Y	Y
	COS0637	N	N	N	Y	Y	Y	Y
	COS0499	Y	Y	Y	N	N	Y	Y
	COS0547	Y	Y	Y	N	N	Y	Y
	COS0583	Y	Y	Y	Y	Y	N	Y
	C1s CCP1-CCP2-SP 結合体	Y	Y	Y	Y	Y	Y	N
エピトープビン		1			2		3	

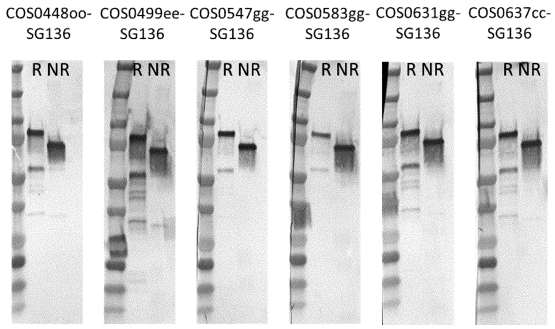
【図７】



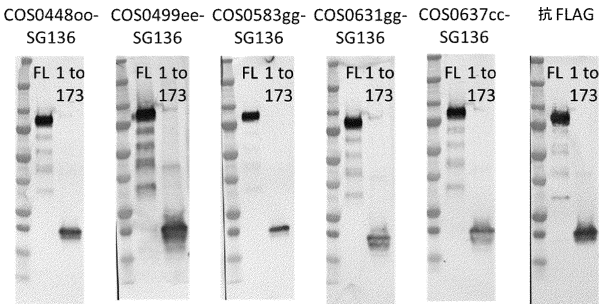
【図８】



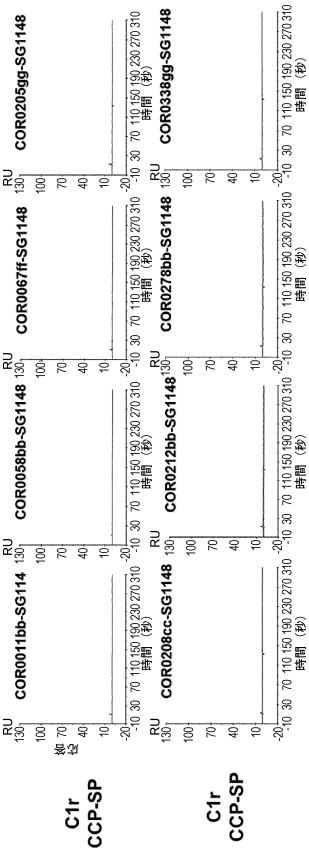
【図９】



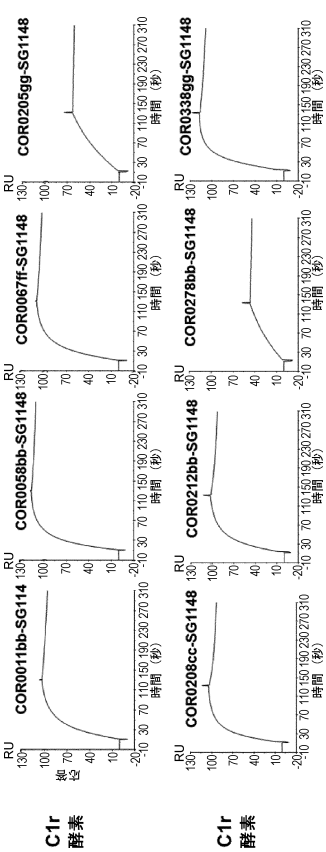
【図１０】



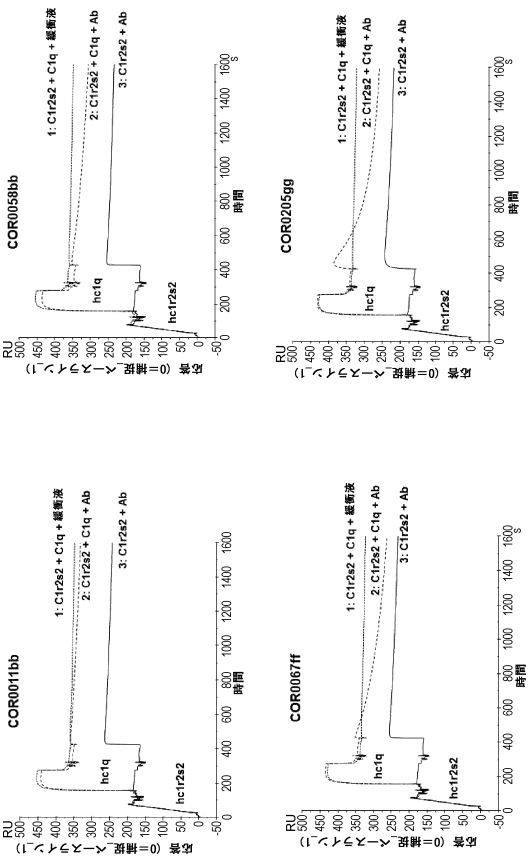
【図１１Ａ】



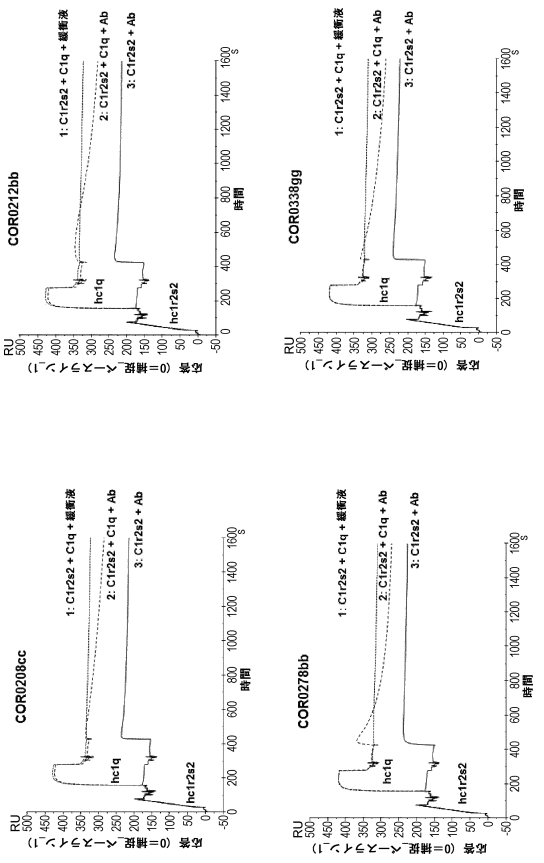
【図１１Ｂ】



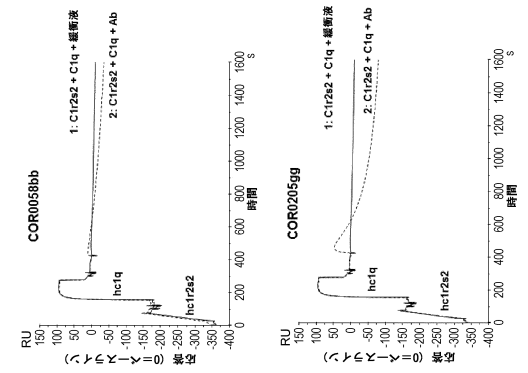
【図１２Ａ】



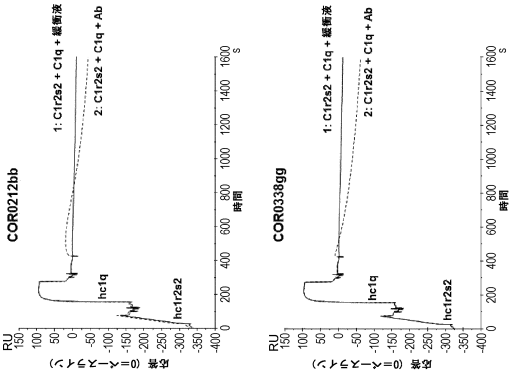
【図１２Ｂ】

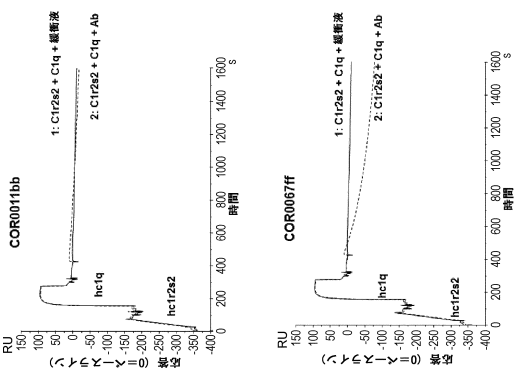


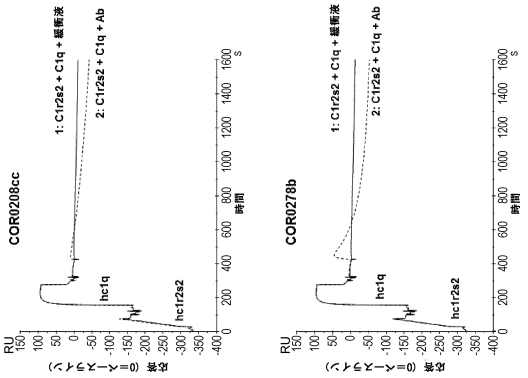
【図１２Ｃ】



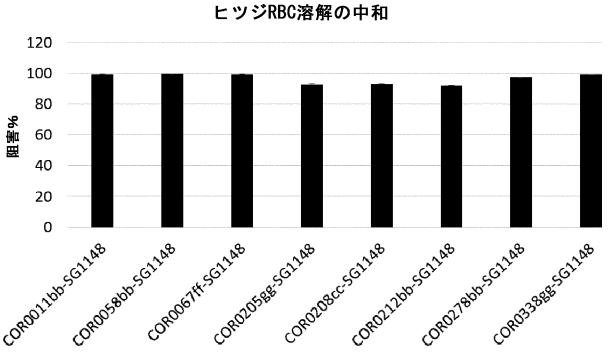
【図１２Ｄ】







【図１３】



【配列表】

0007333789000001.app

フロントページの続き

(33)優先権主張国・地域又は機関
日本国(JP)
(74)代理人 100128048
弁理士 新見 浩一
(74)代理人 100129506
弁理士 小林 智彦
(74)代理人 100205707
弁理士 小寺 秀紀
(74)代理人 100114340
弁理士 大関 雅人
(74)代理人 100121072
弁理士 川本 和弥
(72)発明者 福澤 拓
静岡県御殿場市駒門１丁目１３５番地 中外製薬株式会社内
(72)発明者 原谷 健太
静岡県御殿場市駒門１丁目１３５番地 中外製薬株式会社内
(72)発明者 ホー ウェイ シオング エイドリアン
シンガポール バイオポリス ドライブ ３ シナプス ＃０７－１１／１６ 中外ファーマボディ・リサーチ・ピーティーイー・リミテッド内
(72)発明者 高橋 徳行
シンガポール共和国 バイオポリス ドライブ ３ シナプス ＃０７－１１／１６ 中外ファーマボディ・リサーチ・ピーティーイー・リミテッド内
(72)発明者 村岡 優
静岡県御殿場市駒門１丁目１３５番地 中外製薬株式会社内
審査官 中根 知大
(56)参考文献 J.Biol.Chem., 2009, Vol.284, No. 29, pp. 19340-19348
Molecular Immunology,1997, Vol. 34, No. 8/9, pp 671-679
(58)調査した分野 (Int.Cl.，ＤＢ名)
Ｃ１２Ｎ
ＪＳＴＰｌｕｓ／ＪＭＥＤＰｌｕｓ／ＪＳＴ７５８０（ＪＤｒｅａｍＩＩＩ）
ＣＡｐｌｕｓ／ＭＥＤＬＩＮＥ／ＥＭＢＡＳＥ／ＢＩＯＳＩＳ（ＳＴＮ）
ＵｎｉＰｒｏｔ／ＧｅｎｅＳｅｑ