

(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局

(43) 国際公開日
2024年9月12日(12.09.2024)



(10) 国際公開番号

WO 2024/185747 A1

(51) 国際特許分類:

C07K 16/46 (2006.01) C12N 1/19 (2006.01)
A23K 20/147 (2016.01) C12N 1/21 (2006.01)
A23L 33/18 (2016.01) C12N 5/10 (2006.01)
A61K 39/395 (2006.01) C12N 15/13 (2006.01)
A61P 31/04 (2006.01) C12N 15/62 (2006.01)
A61P 37/04 (2006.01) C12P 21/08 (2006.01)
C12N 1/15 (2006.01)

KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU,
LY, MA, MD, MG, MK, MN, MU, MW, MX, MY,
MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL,
PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK,
SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA,
UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW.

(21) 国際出願番号: PCT/JP2024/008128

(22) 国際出願日: 2024年3月4日(04.03.2024)

(25) 国際出願の言語: 日本語

(26) 国際公開の言語: 日本語

(30) 優先権データ:
特願 2023-033251 2023年3月3日(03.03.2023) JP

(71) 出願人: 国立大学法人 東京大学 (THE
UNIVERSITY OF TOKYO) [JP/JP]; 〒1138654
東京都文京区本郷七丁目3番1号 Tokyo (JP).

(72) 発明者: 新 藏 礼 子 (SHINKURA Reiko);
〒1138654 東京都文京区本郷七丁目3番1号
国立大学法人東京大学内 Tokyo (JP).

(74) 代理人: 小 野 誠, 外 (ONO Makoto et al.);
〒1008136 東京都千代田区大手町一丁目
1番1号 大手町パークビルディング ア
ンダーソン・毛利・友常法律事務所 外
国法共同事業 Tokyo (JP).

(81) 指定国(表示のない限り、全ての種類の国内保
護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA,
BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN,
CO, CR, CU, CV, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC,
EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR,
HU, ID, IL, IN, IQ, IR, IS, IT, JM, JO, JP, KE, KG,

(84) 指定国(表示のない限り、全ての種類の広域保
護が可能): ARIPO (BW, CV, GH, GM, KE, LR, LS,
MW, MZ, NA, RW, SC, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG,
ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU,
TJ, TM), ヨーロッパ (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ,
DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS,
IT, LT, LU, LV, MC, ME, MK, MT, NL, NO, PL, PT,
RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF,
CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE,
SN, TD, TG).

添付公開書類:

- 一 国際調査報告 (条約第21条(3))
- 一 明細書の別個の部分として表した配列リスト
(規則5.2(a))

(54) Title: IMMUNOGLOBULIN

(54) 発明の名称: 免疫グロブリン

(57) Abstract: The present disclosure provides an immunoglobulin multimer, a method for producing the same, and a modified immunoglobulin capable of forming an immunoglobulin multimer. In another aspect, the present disclosure has an effect of providing: a method for utilizing an immunoglobulin multimer or a modified immunoglobulin capable of forming an immunoglobulin multimer; and a composition containing an immunoglobulin multimer or a modified immunoglobulin capable of forming an immunoglobulin multimer.

(57) 要約: 本開示は、免疫グロブリン多量体およびこれを製造する方法、および免疫グロブリン多量体形成能を有する免疫グロブリン改変体を提供する。別の態様において、本開示は免疫グロブリン多量体または免疫グロブリン多量体形成能を有する免疫グロブリン改変体を利用する方法、免疫グロブリン多量体または免疫グロブリン多量体形成能を有する免疫グロブリン改変体を含む組成物を提供するという効果を有する。

WO 2024/185747 A1

明 細 書

発明の名称：免疫グロブリン

技術分野

[0001] 本開示は、免疫グロブリン多量体を製造する方法、および免疫グロブリン多量体、免疫グロブリン多量体形成能を有する免疫グロブリン改変体、およびこれらを含む組成物並びにこれらの使用に関する。

背景技術

[0002] 免疫グロブリンには、Ig G、Ig M、Ig A、Ig D、Ig E等の様々なアイソタイプが存在しており、それぞれ生体内での機能が異なっている。Ig AやIg M等の免疫グロブリンは二量体や五量体などの多量体を形成し、生体内で機能していることが知られている。免疫グロブリンは多量体の状態となることで抗原との結合部位が増えるため、単量体の免疫グロブリンよりも高い生理活性を示し、多量体に含まれる免疫グロブリンの数が増加するほど、より高い生理活性を示すと考えられている。

[0003] これまでに、免疫グロブリン多量体を製造するための方法が様々に検討されてきた（例えば、特許文献1：WO 2021/193553）。しかしながら、免疫グロブリン多量体を安定的かつ高品質に作ることができる方法がさらに求められている。

先行技術文献

特許文献

[0004] 特許文献1：WO 2021/193553 A 1

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0005] 本開示は、免疫グロブリン多量体およびこれを製造する方法、当該方法に利用し得る免疫グロブリン改変体を提供する。別の態様において、本開示は免疫グロブリン多量体および免疫グロブリン改変体を利用する方法、組成物を提供する。

課題を解決するための手段

- [0006] 本発明者らが免疫グロブリンの多量体を人為的に作製する方法を探求した結果、予想外にも、少なくとも1つの重鎖のC末端に欠損を有する免疫グロブリン改変体を用いることで、高品質の免疫グロブリン多量体を効率よく取得し得ることを見出した。特に、少なくとも1つの重鎖のC末端に欠損を有する免疫グロブリン改変体のC末端に、多量体化を促進するための異種アミノ酸配列を付加することで、高品質の免疫グロブリン多量体を効率よく取得し得ることを見出した。
- [0007] 上記知見に基づき、本開示は一態様において、免疫グロブリン多量体を製造する方法を提供する。
- [0008] 本開示は別の態様において、免疫グロブリン多量体を提供する。
- [0009] 本開示は別の態様において、免疫グロブリン多量体形成能を有する免疫グロブリン改変体を提供する。
- [0010] 本開示は別の態様において、免疫グロブリン多量体または免疫グロブリン改変体を含有する、医薬組成物、食品組成物、飼料組成物、または試薬組成物を提供する。
- [0011] 本開示は別の態様において、免疫グロブリン多量体または免疫グロブリン改変体を使用する疾患、障害または状態の治療または予防方法を提供する。
- [0012] 本開示は別の態様において、免疫グロブリン多量体または免疫グロブリン改変体を使用する試験、検査または診断方法を提供する。
- [0013] より具体的には、本開示は以下を提供する。

[項目1]

少なくとも1つの重鎖のC末端多量体形成能促進領域に欠損を有する免疫グロブリン改変体を少なくとも1つ含む、2つ以上の免疫グロブリンを接触させる工程； および

前記2つ以上の免疫グロブリンを結合させる工程を含む、免疫グロブリン多量体を製造する方法。

[項目2]

前記欠損が、多量体形成能促進領域における1つ以上のアミノ酸の欠失である、項目1に記載の方法。

[項目3]

C末端多量体形成能促進領域に欠損を有する免疫グロブリン改変体のC末端に、多量体化を促進する異種アミノ酸配列が付加されている、項目1に記載の方法。

[項目4]

前記複数の免疫グロブリンのそれぞれがIgAまたはIgMである、項目1に記載の方法。

[項目5]

項目1に記載の方法で製造された免疫グロブリン多量体。

[項目6]

2以上の免疫グロブリンを含む免疫グロブリン多量体であって、前記2以上の免疫グロブリンを構成する免疫グロブリンの少なくとも1つの免疫グロブリンが、少なくとも1つの重鎖のC末端多量体形成能促進領域に欠損を有する免疫グロブリン改変体である、免疫グロブリン多量体。

[項目7]

細菌増殖抑制作用を有する、項目5または6に記載の免疫グロブリン多量体。

[項目8]

細菌凝集作用を有する、項目5または6に記載の免疫グロブリン多量体。

[項目9]

C末端多量体形成能促進領域に欠損を有し、免疫グロブリン多量体形成能を有する免疫グロブリン改変体。

[項目10]

項目5または6に記載の免疫グロブリン多量体または項目9に記載の免疫グロブリン改変体を含む食品組成物、飼料組成物、医薬品組成物または試薬組成物。

[項目 1 1]

項目 9 に記載の免疫グロブリン改変体をコードする核酸配列を含む核酸。

[項目 1 2]

項目 1 1 に記載の核酸を含む細胞。

発明の効果

[0014] 本開示は、免疫グロブリン多量体およびこれを製造する方法、および免疫グロブリン多量体形成能を有する免疫グロブリン改変体を提供する。別の態様において、本開示は免疫グロブリン多量体または免疫グロブリン多量体形成能を有する免疫グロブリン改変体を利用する方法、免疫グロブリン多量体または免疫グロブリン多量体形成能を有する免疫グロブリン改変体を含む組成物を提供するという効果を有する。

図面の簡単な説明

[0015] [図1]図 1 は、抗体CHO W27HAACOMPの重鎖アミノ酸配列（シグナル配列を示さない）を示す図である。

[図2]図 2 は、抗体CHO W27HKKCOMPの重鎖アミノ酸配列（シグナル配列を示さない）を示す図である。

[図3]図 3 は、抗体CHO W27HdirectCOMPの重鎖アミノ酸配列（シグナル配列を示さない）を示す図である。

[図4]図 4 は、抗体CHO W27notailCOMPの重鎖アミノ酸配列（シグナル配列を示さない）を示す図である。

[図5]図 5 は、IgAのH鎖C末端領域の構成およびリンカーの構成が多量体形成に与える影響を検討した結果を示す図である。

[図6]図 6 は、W27 IgA多量体の大腸菌への結合力を確認した図である。

[図7]図 7 は、免疫グロブリン多量体が優れたインビトロ細菌増殖抑制効果を有することを確認した結果を示す図である。

[図8]図 8 は、免疫グロブリン多量体が優れたインビボ細菌関連腸炎抑制効果を有することを確認した結果を示す図である。

発明を実施するための形態

[0016] 本開示の発明者らは、免疫グロブリン多量体を製造することを試みたが、特に、生理活性を保持した免疫グロブリン多量体を効率よく製造することは困難であった。さらに独自の試行錯誤を試みた結果、驚くべきことに、重鎖のC末端多量体形成能促進領域に欠損を有する免疫グロブリン改変体を用いることで、高品質の免疫グロブリン多量体を効率よく取得し得ることを予想外にも見出した。特に、免疫グロブリン改変体の重鎖C末端に、多量体化を促進するための異種アミノ酸配列を付加することで、高品質の免疫グロブリン多量体を効率よく取得し得ることを予想外にも見出した。

[0017] (定義)

本明細書において、複数の数値の範囲が示された場合、それら複数の範囲の任意の下限值および上限値の組み合わせからなる範囲も同様に意味する。

[0018] 他に定義しない限り、本明細書で使用する技術用語及び科学用語は、全て、本開示が属する技術分野の当業者により通常に理解されているものと同じ意味を有する。

[0019] 本明細書において、数値xに関連して、「約」という用語を用いる場合、当該値は例えば、10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%、1%、0.5%、0.1%、0.05%または0.01%の範囲内で変動し得ることを意味する。

[0020] 本明細書において、「含む」という用語は、本開示が属する技術分野の当業者により通常に理解されているものと同じ意味であるが、例えば「含む」ことおよび「からなる」を内包し、具体的には、Aを「含む」組成物は、Aのみを含む場合に加えて、他の構成要素、Bを含むこともある。

[0021] 本明細書において「分離する」とは、本開示が属する技術分野の当業者により通常に理解されているものと同じ意味であるが、例えば混合組成物から特定の成分を選択的に取得し、他の成分を排除することを意味する。本明細書において、免疫グロブリンを培養培地から分離するような場合、「分離する」は「単離する」、「精製する」、「富化する」、「濃縮する」と同じ意

味を有することがある。

[0022] 本明細書において「タンパク質」とは、アミノ酸がペプチド結合により連結したポリペプチドにより構成される物質をいう。本明細書においてタンパク質という場合にはその分子量は特に限定されない。したがって、本明細書においてタンパク質という場合は、ポリペプチドおよびペプチドの意味をも包含する。

[0023] 本明細書において「欠損する」とは、本開示が属する技術分野の当業者により通常に理解されているものと同じ意味であるが、例えば対象の分子、領域などが本来有している機能または性質が減少または完全に喪失することを意味する。

[0024] 本明細書において「改変体」とは、本開示が属する技術分野の当業者により通常に理解されているものと同じ意味であるが、例えば対象がタンパク質である場合、その可変体はアミノ酸配列に1アミノ酸以上の置換、欠失、付加といった変異を有することを意味する。別の態様において、改変体は異種分子が結合したものを意味する。

[0025] (免疫グロブリン多量体を製造する方法)

本開示は一態様において、免疫グロブリン多量体を製造する方法を提供する。典型的には、本開示の免疫グロブリン多量体を製造する方法は以下の構成を有する。

少なくとも1つの重鎖のC末端多量体形成能促進領域に欠損を有する免疫グロブリン改変体を少なくとも1つ含む、2つ以上の免疫グロブリンを接触させる工程；および

前記2つ以上の免疫グロブリンを結合させる工程；

を含む、免疫グロブリン多量体を製造する方法。

[0026] 本開示の方法はさらに、前記結合により生成した免疫グロブリン多量体を分離する工程を含んでもよい。

[0027] 本開示の方法において、2つ以上の免疫グロブリンを接触させる工程を行う環境は、当該2つ以上の免疫グロブリンの結合を生じさせる環境であれば

特に限定されない。例えば、細胞内、細胞懸濁液、細胞成分を含む試験管内などの環境で行うことができる。一態様において、当該2つ以上の免疫グロブリンを接触させる工程は、当該免疫グロブリンをコードする核酸を細胞内で発現させることにより、当該細胞内で2つ以上の免疫グロブリンを接触させることで実現され得る。

[0028] 本開示の方法において、前記2つ以上の免疫グロブリンを結合させる工程を行う環境は、当該2つ以上の免疫グロブリンの結合を生じさせる環境であれば特に限定されない。例えば、細胞内、細胞懸濁液、細胞成分を含む試験管内などの環境で行うことができる。一態様において、前記2つ以上の免疫グロブリンを結合させる工程は、細胞内で2つ以上の免疫グロブリンを接触させることで、グロブリン分子同士の相互作用によって実現され得る。2つ以上の免疫グロブリンの結合様式はあらゆる態様を包含し、例えば共有結合、イオン結合、疎水結合を含む。2つ以上の免疫グロブリンの結合は、免疫グロブリンに結合させた異種分子を介したものであって良い。

[0029] 本開示の方法において、前記結合により生成した免疫グロブリン多量体を分離する工程は特段限定されず、本開示の技術分野においてタンパク質を分離するために一般的に利用される各種方法を用いて実施できる。例えば、アフィニティークロマトグラフィー、イオン交換クロマトグラフィー、疎水性相互作用クロマトグラフィー、エタノール沈殿、逆相HPLC、シリカ上またはDEAEなどの陽イオン交換樹脂によるクロマトグラフィー、クロマトフォーカシング、SDS-PAGE、硫酸アンモニウム沈殿法、ゲルろ過等の手法を単独で又は組み合わせて使用できる。

[0030] 本開示の免疫グロブリン多量体を製造する方法において、培養培地中の免疫グロブリン多量体を他の培養培地成分から分離する工程では、生産された免疫グロブリン多量体を定法に従って分離することができる。本開示の免疫グロブリン多量体を製造する方法においては免疫グロブリン多量体の単離および精製のために細胞を破壊するといった処理は必須ではない。好ましい態様において、本開示の免疫グロブリン多量体を製造する方法は、細胞を破壊

する処理を含まない。一態様において、本開示の免疫グロブリン多量体を製造する方法において使用される細胞は免疫グロブリンを細胞内に生産してもよい。免疫グロブリン多量体を細胞内に含む細胞は、それ自体を有効成分として組成物に配合することができる。例えば、免疫グロブリン多量体を産生する細胞として酵母や糸状菌を用いる場合、免疫グロブリン多量体を産生する細胞事態を経口投与することができる。このような免疫グロブリン多量体を含む細胞を経口投与する場合には、投与前に細胞を破壊してもよいが、破壊しなくてもよい。

[0031] 本開示の方法に細胞を用いる場合、当該細胞は少なくとも1つの重鎖のC末端多量体形成能促進領域に欠損を有する免疫グロブリン改変体として、異なる種類の欠損を有する2種以上の免疫グロブリン改変体を発現していてもよい。また、一態様として、本開示の方法において用いられる細胞は、少なくとも1つの重鎖のC末端多量体形成能促進領域に欠損を有する免疫グロブリンに加えて、C末端多量体形成能促進領域に欠損を有しない免疫グロブリンを発現していてもよい。

[0032] 本開示の方法において、製造される免疫グロブリン多量体の種類は特に限定されず、例えば、IgG、IgA、IgM、IgDまたはIgEから選択することができる。ある好ましい態様では、免疫グロブリンは、IgAまたはIgMである。好ましい態様では、得られる免疫グロブリン多量体は、生理活性、例えば抗原への結合活性を有する。

[0033] 本開示の方法で製造される免疫グロブリン多量体は、様々な生物の免疫グロブリンを含むものであってよい。例えば、ヒト、ヒト以外の霊長類、マウス、ラット、モルモット、ウサギ、ハムスター、イヌ、ネコ、イタチ、ウシ、ブタ、ウマ、シカ、イノシシ、ヒツジ、ヤギ、ラクダ等の免疫グロブリンであってもよい。ある好ましい態様では、免疫グロブリンは、ヒト免疫グロブリンである。

[0034] 本開示の方法で製造される免疫グロブリンは、C末端多量体形成能促進領域における欠損以外に、重鎖又は軽鎖に天然型のアミノ酸配列を有してもよ

く、天然型に対する変異を有するものであってもよい。当該変異はアミノ酸の追加、削除、置換を含み、N末端またはC末端の短縮を含む。当該変異により、製造される免疫グロブリンの抗原結合能、安定性などの特性を調整することができる。

[0035] 本開示の方法で製造される免疫グロブリン多量体が含む免疫グロブリンは、C末端多量体形成能促進領域における欠損を有する免疫グロブリンとともに、当該欠損を有しない免疫グロブリンを含むことができる。C末端多量体形成能促進領域における欠損を有する免疫グロブリンおよび当該欠損を有しない免疫グロブリンは、C末端多量体形成能促進領域における欠損以外に、重鎖又は軽鎖に天然型のアミノ酸配列を有してもよく、天然型に対する変異を有するものであってもよい。当該変異はアミノ酸の追加、削除、置換を含み、N末端またはC末端の短縮を含む。当該変異により、製造される免疫グロブリンの抗原結合能、安定性などの特性を調整することができる。

[0036] 一態様において、本開示の方法により製造される免疫グロブリン多量体を構成する免疫グロブリンは、IgG、IgA、IgM、IgDまたはIgEの構成を混合したものであってもよい。例えば、組み換え技術などによりIgAまたはIgMの多量体形成能促進領域または他の領域を付加された、あるいは当該領域によって天然の領域を一部置換されたIgG、IgA、IgM、IgDまたはIgEであってもよい。あるいは、本開示の方法により製造される免疫グロブリン多量体を構成する免疫グロブリンは、多量体形成能促進領域以外の部分を他のクラスのグロブリンで置換されたIgAまたはIgMであってもよい。本開示において、免疫グロブリンがIgG、IgA、IgM、IgDまたはIgEであると述べる時、他の種類の免疫グロブリンの一部を含む、および／または他の種類の免疫グロブリンの一部によって置換されているIgG、IgA、IgM、IgDまたはIgEを包含する。本開示の方法により製造される免疫グロブリン多量体を構成する免疫グロブリンがIgG、IgA、IgM、IgDまたはIgEであると述べる時、それぞれ他の種類の免疫グロブリンの一部を含む、および／または他の種類

の免疫グロブリンの一部によって置換されている I g G、I g A、I g M、I g D または I g E を包含する。

[0037] 本開示の方法で製造される免疫グロブリン多量体は、免疫グロブリンを 2 以上含む。好ましい態様において、本開示の方法で製造される免疫グロブリン多量体は、2～3 個、2～4 個、2～5 個、2～6 個、2～7 個、2～8 個、2～9 個の免疫グロブリンを含む。

[0038] 本開示の方法において用いる、少なくとも 1 つの重鎖の C 末端多量体形成能促進領域に欠損を有する免疫グロブリン改変体として、下記（C 末端多量体形成能促進領域に欠損を有する免疫グロブリン改変体）にて説明する免疫グロブリン改変体を使用することができる。

[0039] 少なくとも 1 つの重鎖の C 末端多量体形成能促進領域に欠損を有する免疫グロブリン改変体を発現する細胞は特に限定されず、当業者によって適宜選択することができる。一態様において、高次構造を形成することによって機能を発揮する哺乳類等に由来する各種タンパク質を産生し得る細胞を利用することが好ましい。当該細胞として、例えば C O S 細胞、H E K 細胞、H E L A 細胞、C H O 細胞等の哺乳類由来の細胞、S f 9 等といった昆虫由来の細胞、酵母、糸状菌等といった公知の細胞を適宜選択することができるがこれらに限定されない。

[0040] 上記免疫グロブリンまたは免疫グロブリン改変体を発現する細胞は、遺伝子工学を用いて定法により得ることができる。例えば、免疫グロブリンを産生し得る細胞に、免疫グロブリンまたは免疫グロブリン改変体をコードする核酸を形質導入することによって得ることができる。

[0041] 本開示の方法に用いる細胞に免疫グロブリン等をコードする核酸を形質導入する場合、当業者は公知の情報に基づいて、その具体的な核酸の導入方法を採用することができる。例えば、当該核酸は宿主細胞のゲノムとは別に、プラスミド、人工染色体などの形態で導入されてもよく、ゲノム編集技術などを用いて宿主細胞のゲノム内に組み込まれてもよい。本開示の方法で使用するゲノム改変技術（ゲノム編集技術）には、本開示の技術分野に一般的に

使用される各種方法を利用することができる。例えば、CRISPR-Cas システム、メガヌクレアーゼ（MN）、ジンクフィンガーヌクレアーゼ（ZFN）、および転写活性化様エフェクターヌクレアーゼ（TALEN）などを利用することができる。一態様において、改変後の宿主細胞にゲノム改変用のプラスミドが残存しない改変技術を用いることが好ましい。例えば、宿主細胞として糸状菌を用いる場合、特開2018-191551に開示される、多段階による多重変異株作成用のゲノム編集プラスミドを単一段階の変異操作または多段階の変異操作に利用することで、改変後の宿主細胞にゲノム改変用のプラスミドが残存しないゲノム改変細胞を得ることができる。

[0042] 本開示の宿主細胞を製造する方法に含まれるゲノム改変操作に用いられるベクターまたは核酸構築物として、本開示の技術分野で一般的に使用される各種ベクターまたは核酸構築物を使用することができる。例えば、特開2012-179011に開示される選択可能マーカー遺伝子、クローニング部位及び制御領域（プロモーター及びターミネーター）を有するベクターを用いることができる。一態様において、ゲノム改変操作に CRISPR-Cas システムを用いる場合、特開2018-191551に開示される、プラスミドの自律複製を可能とする *A. nidulans* 由来のDNA断片 AMA1 および高発現により生育を著しく悪化させる *Aoace2* 遺伝子を特定の条件で高発現できるように設計したDNA断片を含むベクターを好適に使用することができる。

[0043] 当業者は当該核酸を導入した細胞の培養条件、回収方法、精製方法などを、細胞の種類等によって適宜調整することができ、本開示に係る免疫グロブリン多量体を製造することができる。

[0044] 上記細胞を培養する工程において、細胞を培養する条件、例えば培地の組成、培養温度、培地 pH、振とう条件は、当業者が公知の技術に基づいて任意に調節および最適化することができる。これら条件を最適化することで、免疫グロブリンの収量、収率、品質などを向上させることができる他、安定性などにおいて所望の特性を有する免疫グロブリン多量体を製造することが

できる。

[0045] 一態様において、上記細胞を培養する培地のpHは、4～11の間の任意のpHで調節することが可能である。好ましくは、培地のpHは4.0～11.0、4.5～10.0、5.0～9.0、5.5～8.5または6.0～8.0の範囲から選ばれる。一態様において、培地のpHは5.0以上、5.5以上、6.0以上、6.5以上、7.0以上、7.5以上、8.0以上、8.5以上、9.0以上および、9.5以上、並びに、11.0以下、10.5以下、10.0以下、9.5以下、9.0以下、8.5以下、8.0以下、7.5以下、7.0以下、6.5以下、6.0以下、5.5以下および5.0以下、またはこれら上限および下限の任意の組み合わせの範囲に設定することができる。

[0046] 本開示の方法において、細胞懸濁液または細胞成分を含む試験管内環境を用いる場合、これらに用いる細胞および細胞成分は特段限定されず、本開示の技術分野においてタンパク質の発現、反応などに利用される各種構成を用いて実施することができる。

[0047] 分離された免疫グロブリンが多量体形態であることは、本開示の技術分野に一般的に使用される各種方法を用いて確認できる。例えば、培養培地から分離された免疫グロブリンを、非還元状態のドデシルナトリウム硫酸ポリアクリルアミドゲル電気泳動（SDS-PAGE）にて解析することにより、当該免疫グロブリンが多量体であることを確認できる。

[0048] （免疫グロブリン多量体）

一態様において、本開示は免疫グロブリン多量体を提供する。典型的には、本開示の提供する免疫グロブリン多量体以下の構成を有する。

2以上の免疫グロブリンを含む免疫グロブリン多量体であって、前記2以上の免疫グロブリンを構成する免疫グロブリンの少なくとも1つの免疫グロブリンが、少なくとも1つの重鎖のC末端多量体形成能促進領域に欠損を有する免疫グロブリン改変体である、免疫グロブリン多量体。

[0049] 本開示の免疫グロブリン多量体は、一態様において、上記（免疫グロブリ

ン多量体を製造する方法) において説明した製造方法によって製造される。

[0050] したがって、本開示の免疫グロブリン多量体は、少なくとも1つの重鎖のC末端多量体形成能促進領域に欠損を有する免疫グロブリン改変体であって、異なる種類の欠損を有する2種以上の免疫グロブリン改変体を含むことができる。

[0051] また、本開示の免疫グロブリン多量体を構成する免疫グロブリンの種類は特に限定されず、例えば、IgG、IgA、IgM、IgDまたはIgEから選択することができる。ある好ましい態様では、免疫グロブリンは、IgAまたはIgMである。好ましい態様において、本開示の免疫グロブリン多量体は生理活性、例えば抗原への結合活性を有する。

[0052] 本開示の免疫グロブリン多量体は、様々な生物の免疫グロブリンを含むものであってよい。例えば、ヒト、ヒト以外の霊長類、マウス、ラット、モルモット、ウサギ、ハムスター、イヌ、ネコ、イタチ、ウシ、ブタ、ウマ、シカ、イノシシ、ヒツジ、ヤギ、ラクダ等の免疫グロブリンであってもよい。ある好ましい態様では、免疫グロブリンは、ヒト免疫グロブリンである。

[0053] 本開示の免疫グロブリン多量体は、C末端多量体形成能促進領域における欠損を有する免疫グロブリンとともに、当該欠損を有しない免疫グロブリンを含んでもよい。C末端多量体形成能促進領域における欠損を有する免疫グロブリンおよび当該欠損を有しない免疫グロブリンは、C末端多量体形成能促進領域における欠損以外に、重鎖又は軽鎖に天然型のアミノ酸配列を有してもよく、天然型に対する変異を有するものであってよい。当該変異はアミノ酸の追加、削除、置換を含み、N末端またはC末端の短縮を含む。当該変異により、製造される免疫グロブリンの抗原結合能、安定性などの特性を調整することができる。

[0054] 一態様において、本開示の免疫グロブリン多量体を構成する免疫グロブリンは、IgG、IgA、IgM、IgDまたはIgEの構成を混合したものであってよい。例えば、組み換え技術などによりIgAまたはIgMの多量体形成能促進領域または他の領域を付加された、あるいは当該領域によっ

て天然の領域を一部置換された I g G、I g A、I g M、I g D または I g E であってもよい。あるいは、本開示の免疫グロブリン多量体を構成する免疫グロブリンは、多量体形成能促進領域以外の部分を他のクラスのグロブリンで置換された I g A または I g M であってもよい。本開示において、免疫グロブリンが I g G、I g A、I g M、I g D または I g E であると述べる時、それぞれ他の種類の免疫グロブリンの一部を含む、および／または他の種類の免疫グロブリンの一部によって置換されている I g G、I g A、I g M、I g D または I g E を包含する。

[0055] 本開示の免疫グロブリン多量体は、免疫グロブリンを 2 以上含む。好ましい態様において、本開示の免疫グロブリン多量体は、2～3 個、2～4 個、2～5 個、2～6 個、2～7 個、2～8 個、2～9 個の免疫グロブリンを含む。

[0056] 本開示の免疫グロブリン多量体の含む免疫グロブリン改変体は、一態様において、下記（C 末端多量体形成能促進領域に欠損を有する免疫グロブリン改変体）において説明する免疫グロブリン改変体である。

[0057] （C 末端多量体形成能促進領域に欠損を有する免疫グロブリン改変体）

一態様において、本開示は C 末端多量体形成能促進領域に欠損を有する免疫グロブリン改変体を提供する。典型的には、本開示の C 末端多量体形成能促進領域に欠損を有する免疫グロブリンは以下の構成を有する。

C 末端多量体形成能促進領域に欠損を有する免疫グロブリン改変体であって、免疫グロブリン多量体形成能を有する免疫グロブリン改変体。

[0058] 一態様において、本開示の C 末端多量体形成能促進領域に欠損を有する免疫グロブリン改変体は、上記（免疫グロブリン多量体を製造する方法）において用いられるものである。

[0059] したがって、本開示の C 末端多量体形成能促進領域に欠損を有する免疫グロブリン改変体、少なくとも 1 つの重鎖の C 末端多量体形成能促進領域に欠損を有する免疫グロブリン改変体であって、異なる種類の欠損を有する 2 種以上の免疫グロブリン改変体を含むことができる。

- [0060] また、本開示のC末端多量体形成能促進領域に欠損を有する免疫グロブリン改変体の免疫グロブリンの種類は特に限定されず、例えば、IgG、IgA、IgM、IgDまたはIgEから選択することができる。ある好ましい態様では、免疫グロブリン改変体は、IgAまたはIgMである。好ましい態様において、本開示の免疫グロブリン改変体は生理活性、例えば抗原への結合活性を有する。
- [0061] 本開示の免疫グロブリン改変体は、様々な生物の免疫グロブリンを含むものであってよい。例えば、ヒト、ヒト以外の霊長類、マウス、ラット、モルモット、ウサギ、ハムスター、イヌ、ネコ、イタチ、ウシ、ブタ、ウマ、シカ、イノシシ、ヒツジ、ヤギ、ラクダ等の免疫グロブリンであってもよい。ある好ましい態様では、免疫グロブリン改変体は、ヒト免疫グロブリンである。
- [0062] 一態様において、本開示のC末端多量体形成能促進領域に欠損を有する免疫グロブリン改変体は、IgG、IgA、IgM、IgDまたはIgEの構成を混合して有するものであってよい。例えば、組み換え技術などによりIgAまたはIgMの多量体形成能促進領域または他の領域を付加された、あるいは当該領域によって天然の領域を一部置換されたIgG、IgA、IgM、IgDまたはIgEであってもよい。あるいは、本開示のC末端多量体形成能促進領域に欠損を有する免疫グロブリン改変体は、多量体形成能促進領域以外の部分を他のクラスのグロブリンで置換されたIgAまたはIgMであってもよい。本開示において、免疫グロブリン改変体がIgG、IgA、IgM、IgDまたはIgEであると述べる時、それぞれ他の種類の免疫グロブリンの一部を含む、および／または他の種類の免疫グロブリンの一部によって置換されているIgG、IgA、IgM、IgDまたはIgEを包含する。
- [0063] 本開示の方法で使用される免疫グロブリン改変体の重鎖C末端多量体形成能促進領域は、免疫グロブリンが2量体以上の多量体を形成する際に、当該多量体形成過程を促進する機能を有する領域、または形成された多量体を安

定化する領域を包含する。当該領域は、天然の免疫グロブリンに含まれるものであってもよく、アミノ酸変異を含むもの、異種分子を含むものであってもよい。好ましくは、当該領域は、天然の免疫グロブリンに含まれるものである。

[0064] 上記免疫グロブリン改変体の重鎖C末端多量体形成能促進領域における欠損は、多量体形成能促進機能を低下または喪失させるあらゆる態様を含む。一態様において、当該欠損は多量体形成能促進機能に寄与する免疫グロブリン重鎖C末端領域のベータシート構造 (Int J Mol Sci. 2021 Dec; 22(23): 12776.) を欠損させるものである。一態様において、当該欠損は1以上のアミノ酸配列の欠失、置換、挿入であってもよい。一態様において、当該欠損は当該領域に対する異種分子の結合であってもよい。当該欠損の存在する位置は、多量体形成能促進領域のいずれの位置であってもよい。好ましい態様において、当該欠損はアミノ酸配列の欠失であり、より好ましい態様はC末端からの1以上のアミノ酸の欠失である。例えば、免疫グロブリンがマウスIgAである場合、当該欠失はアミノ酸重鎖のC末端に位置するアミノ酸配列PTNVSVSVIMSEGDGICY (配列番号7) を含む。

[0065] 本開示の方法で用いられる免疫グロブリン改変体は多量体化を促進するための異種アミノ酸配列を含んでもよい。このような異種アミノ酸配列として、例えばコイルドコイルドメインを形成するアミノ酸配列を利用することができる。一態様において、当該異種アミノ酸配列は、軟骨オリゴマー基質タンパク質 (COMP)、マンノース結合タンパク質A、コイルドコイルセリンリッチタンパク質1、ポリペプチド放出因子2、SNAP-25、SNARE、Lacリプレッサー、またはアポリポタンパク質Eのうちのいずれかに由来するものを利用することができる。好ましい態様において、多量体化を促進するための異種アミノ酸配列として、例えば特表2016-512309に記載される軟骨オリゴマー基質タンパク質 (COMP) のコイルドコイル集合ドメインを利用することができる。当該異種アミノ酸配列は、免疫グロブ

リントタンパク質のN末端またはC末端、好ましくはC末端に融合させることができる。当該融合には多量体免疫グロブリンの所望の生理機能を喪失しない限り様々なリンカー配列を使用することができるが、使用しなくてもよい。一態様において、アミノ酸配列SSADDAKKDAKKDDAKKDDAKKDDAS（配列番号4）からなるリンカーあるいは、アミノ酸配列SSADDAADAAAADDAADDAADAS（配列番号5）からなるリンカーを使用することができる。一態様において、当該多量体化を促進するための異種配列リンカーまたはリンカーは、免疫グロブリンの短縮されたN末端またはC末端に融合することができる。

[0066] 本開示のC末端多量体形成能促進領域に欠損を有する免疫グロブリンのクラス、アミノ酸配列などは上述のように特に限定されないが、例示として、国際公開2014/142084号に記載されるW27抗体およびW27抗体のCHO細胞産生リコンビナントIgAであって、軽鎖にプロテインL結合のための変異を導入したRS__H000__L001を用いることができる（国際公開2023/277142号を参照。以下、RS__H000__L001を「W27 IgA」と記載する）。より具体的には、W27 IgA抗体に由来する免疫グロブリンとして、重鎖C末端領域にアミノ酸欠失を有し、COMP配列を付加した免疫グロブリン（CHO W27 notail COMP IgA）を使用することができる。

[0067] 以下に、マウス細胞で発現されるCHO W27 notail COMP IgAの重鎖アミノ酸配列を示す。

>配列番号1: CHO W27notailCOMP IgA H アミノ酸配列（シグナル配列無し）

EVQLQQSGSELVKSGASVKLSCTVSGFNFTDYYIHWVRQRTEQGLEWIGRIDPENDETT
YAPKFQ GKATMTADTSSNTAYLQLTSLTSED TAVYYCARSTVLDYWGHGTTLTVSSESA
RNPTIYPLTLPRALSSDPVIIGCLIHDFPSGTMNVTWGKSGKDITTVNFPPALASGGG
YTMSQLTLPAVECPGESVKCSVQHDSNAVQELDVKCSGPPPPCPPPCPPSCHPSLSLQ
RPALEDLLLGS DASLTCTLNGLRNPEGAVFTWEPSTGKDAVQKKAVQNSCGCYSVSSVL
PGCAERWNSGASFKCTVTHPESDTLTGTIAKITVNTFPPQVHLLPPPSEELALNELVSL
TCLVRAFNPKEVLVRWLHGNEELSPESYLVFEPLKEPGE GATTYLVTSVLRVSAELWKQ
GDQYSCMVGHEALPMNFTQKTIDRLSGKNSEGIPLGGDLAPQMLRELQETNAALQDVR
ELLRQQVKEITFLKNTVMECDACGMQPARTPG*

[0068] なお、当該免疫グロブリンをマウス細胞（例えばCHO）で発現させる場合には、N末端にmouse IgVシグナル配列、例えばアミノ酸配列MKCSWIIFFLMAVVTGVNS（配列番号6）を含むシグナル配列付加することができる。

[0069] また、CHO W27 notailCOMP IgAの軽鎖は、W27抗体のCHO細胞産生リコンビナントIgAの改変体（RS__H000__L0001）の軽鎖と同一のアミノ酸配列を有し、その軽鎖可変領域（RS__LV001）のアミノ酸配列は、プロテインL結合のための変異を有している。以下に軽鎖可変領域RS__LV001のアミノ酸配列を示す。

>配列番号3：RS__LV001軽鎖可変領域アミノ酸配列

MKLPVRLLLVLMFWIPGFSSDVLMTQSPASLSVSLGDRATISCRASQSIVHTNGNTYLEW
YLQKPGQSPKLLIYKVSNRFSGVDPDRFSGSGSGTDFILKISRVEAEDLGVIYCFQGSHV
PPTFGGGTKLEVK*

[0070] （免疫グロブリン改変体をコードする核酸）

一態様において、本開示は上記（C末端多量体形成能促進領域に欠損を有する免疫グロブリン改変体）で説明した免疫グロブリン改変体をコードする核酸を提供する。

[0071] 当該核酸は、リボヌクレオチドであっても、デオキシヌクレオチドであってもよい。また、当該核酸は1本鎖の形態であっても、2本鎖の形態であってもよく特に限定はされない。

[0072] 上述のアミノ酸配列をコードする塩基配列は、1つのアミノ酸配列に対して1種類の塩基配列からなる核酸には限定されず、核酸の使用目的に応じて

当該アミノ酸をコードする各種コドンを選択して決定されたものであればよい。使用目的としては、例えば、当該塩基配列を用いて、本開示に係るC末端多量体形成能促進領域に欠損を有する免疫グロブリンを発現させ、それを製造すること等が挙げられる。特に製造時に採用する宿主細胞の種類に対応したコドン頻度を考慮して各種コドンを選択すればよい。

[0073] このような塩基配列は、例えば公知のプログラムを採用すれば、インシリコにて容易に決定することができる。また、本開示に係る核酸は、配列番号1～50に対して、上記の（C末端多量体形成能促進領域に欠損を有する免疫グロブリン）にて説明した変異が施されたアミノ酸配列をコードする塩基配列を有するものであってもよい。

[0074] 本開示の免疫グロブリンをコードする核酸は、例えば、重鎖可変領域及び軽鎖可変領域をコードする塩基配列、並びに異種由来の重鎖定常領域及び軽鎖定常領域をコードする塩基配列を有する核酸を作製し、作製した重鎖可変領域をコードする塩基配列と重鎖定常領域をコードする塩基配列を有する核酸を結合させ、また作製した軽鎖可変領域をコードする塩基配列と軽鎖定常領域をコードする塩基配列を有する核酸を結合させることで作成することができる。

[0075] 本開示の免疫グロブリンは一態様において、重鎖及び／又は軽鎖CDR1～3がマウスに由来するアミノ酸配列を有し、それ以外の領域がヒトに由来するアミノ酸配列を有するといった態様の抗体である（これを、ヒト化抗体と称することもある。）。当該ヒト化抗体は、重鎖及び／又は軽鎖CDR1～3をコードする塩基配列、並びにそれら以外の領域をコードする塩基配列を有する核酸を作製し、重鎖および軽鎖を構成するように核酸を再結合することで作成することができる。一態様において、抗体の結合能の保持のために一部の塩基を他の塩基に置換してもよい。

[0076] 本開示の核酸が有する塩基配列については特に限定はされないが、例えば上記（C末端多量体形成能促進領域に欠損を有する免疫グロブリン改変体）で説明したアミノ酸配列：配列番号1に対応する塩基配列：配列番号2を例示

することができる。

＞配列番号 2 : CH0 W27HnotailCOMPの塩基配列の塩基配列(N末端mouse IgVシグナル配列「MKCSWIIFFLMAVVTGVNS」をコードする部分を含む)

```
ATGAAATGCAGCTGGATCATCTTCTTCCTGATGGCAGTGGTTACAGGGGTCAATTCAGAGGTTTCAGC
TGCAGCAGTCTGGGTTCAGAGCTTGTGAAGTCTGGGGCCTCAGTCAAGTTGTCTGCACAGTTTCTGG
GTTCAACTTTACAGACTACTATATACACTGGGTGAGGCAGAGGACTGAACAGGGCCTGGAATGGATT
GGAAGGATTGATCCTGAGAATGATGAACTACATATGCCCCGAAATTCAGGGCAAGGCCACTATGA
CAGCAGACACATCTTCCAACACAGCCTACCTGCAGCTCACCAGCCTGACATCTGAAGACACTGCCGT
CTATTACTGTGCTAGATCTACGGTCCTTGACTACTGGGGCCACGGCACCCTCTCACAGTCTCCTCA
GAGTCTGCGAGAAATCCCACCATCTACCCACTGACACTCCCACGAGCTCTGTCAAGTGACCCAGTGA
TAATCGGCTGCCTGATTCACGATTACTTCCCTTCCGGCACGATGAATGTGACCTGGGGAAAGAGTGG
GAAGGATATAACCACCGTAAACTTCCCACCTGCCCTGGCCTCTGGGGGAGGGTACACCATGAGCAGC
CAGTTGACCTGCCAGCTGTCGAGTGCCAGAGGAGAATCCGTGAAATGTTCCTGCAACATGACT
CTAACGCCGTCCAAGAATTGGATGTGAAGTGCTCTGGTCCTCCTCCTCCTTGTCTCCTTGTCTCCTC
TTCTTGCCATCCCAGCCTGTCACTGCAGCGGCCAGCTCTTGAGGACCTGCTCCTGGGTTTCAGATGCC
AGCCTCACATGTACTCTGAATGGCCTGAGAAATCCTGAGGGAGCTGTCTTACCTGGGAGCCCTCCA
CTGGGAAGGATGCAGTGCAGAAGAAAGCTGTGCAGAATTCCTGCGGCTGCTACAGTGTGTCCAGCGT
CCTGCCTGGCTGTGCTGAGCGCTGGAACAGTGGCGCATCATTCAAGTGCACAGTTACCCATCCTGAG
TCTGACACCTTAACTGGCACAATTGCCAAAATCACAGTGAACACCTTCCCACCCCAGGTCCACCTGC
TACCGCCGCCGTGCGAGGAGCTGGCCCTGAATGAGCTCGTGTCCCTGACATGCCTGGTGCGAGCTTT
CAACCCTAAAGAAAGTGCTGGTGCGATGGCTGCATGGAAATGAGGAGCTGTCCCCAGAAAGCTACCTA
GTGTTTGAGCCCCCTAAAGGAGCCAGGCGAGGGAGCCACCACCTACCTGGTGACAAGCGTGTGCGTG
TATCAGCTGAACTCTGGAAACAGGGTGACCAGTACTCCTGCATGGTGGGCCACGAGGCCCTTGCCCAT
GAACTTCACCCAGAAGACCATCGACCGTCTGTGCGGTAAAAATTCAGAGGGCCAGATCCCGCTGGGT
GGAGACCTGGCCCCACAGATGCTGCGAGAACTTCAGGAGACTAATGCGGCGCTGCAAGACGTGAGAG
AGCTGTTGCGACAGCAGGTCAAGGAGATCACCTTCTGAAGAATACGGTGATGGAATGTGATGCTTG
CGGAATGCAGCCCGCACGCACTCCAGGCTGA
```

[0077] (ベクター)

一態様において、本開示は免疫グロブリン改変体をコードする核酸を含むベクターを提供する。当該ベクターは、本技術分野において知られたベクターにより免疫グロブリン改変体をコードする核酸を組み込むことで製造することができる。当該製造方法は特に限定されず、当業者に公知の各種方法を利用することができる。

[0078] 本開示のベクターは、宿主細胞内に導入することで免疫グロブリン改変体

を発現するために用いることができる他、試験管内などにおける遺伝子工学的利用のために用いることもできる。

[0079] 一態様において、本開示のベクターを発現ベクターとして用いる場合、ファージベクター、ウイルスベクター、プラスミドベクター等を使用することができる。

[0080] (細胞)

一態様において、本開示は免疫グロブリン改変体をコードする核酸を含む細胞を提供する。当該細胞は特に限定されず、本技術分野において知られた培養細胞、生体内から取得された細胞を含む。

[0081] 一態様において、当該細胞は上記（免疫グロブリン多量体を製造する方法）において使用される細胞であり、核酸にコードされた免疫グロブリン改変体を発現する。当該細胞として、上記（免疫グロブリン多量体を製造する方法）において説明した各種細胞を使用することができる。

[0082] 一態様において、当該細胞は必ずしも核酸にコードされた免疫グロブリン改変体を発現しない。例えば、細胞内における遺伝子工学的操作を行うことなどを目的として、免疫グロブリン改変体をコードする核酸を含む細胞であり得る。当該細胞の具体的な種類は特に限定されず、本技術分野において知られた各種細胞を使用することができる。一態様において、例えば当該細胞は哺乳類細胞、鳥類細胞、爬虫類細胞、両生類細胞、魚類細胞、真菌細胞、細菌細胞、古細菌細胞などでありうるがこれらに限定されない。

[0083] (組成物)

一態様において、本開示は免疫グロブリン多量体またはC末端多量体形成能促進領域に欠損を有する免疫グロブリン改変体を含む組成物を提供する。

本開示の組成物は、精製したグロブリン多量体または免疫グロブリン改変体を含む組成物として提供される他、免疫グロブリン多量体または免疫グロブリン改変体を発現する宿主細胞自体を含む組成物、免疫グロブリン多量体または免疫グロブリン改変体を発現する宿主細胞の培養液の一部または全体を含む組成物、または、宿主細胞と培養液の一部もしくは全体を含む組成物

として提供することができる。本開示の組成物は、好ましくは医薬組成物、食品組成物、飼料組成物、試薬組成物などの形態で提供されるが、これらに限定されない。一態様において、本開示の組成物は医薬組成物、食品組成物、飼料組成物および試薬組成物は、それぞれ最終的な製品を製造するために用いられる材料組成物を含む。

[0084] (医薬組成物)

本開示に係る医薬組成物は、免疫グロブリン多量体またはC末端多量体形成能促進領域に欠損を有する免疫グロブリン改変体の効果を利用して、疾患、障害または状態の治療に用いられる。

[0085] 一態様において、本開示に係る免疫グロブリン多量体または免疫グロブリン改変体は、疾患、障害、状態などに関連する生体内病原体または異常な機能を発現する生体内分子に結合し、当該病原体の生体内での増殖抑制効果、および／または当該病原体もしくは異常な機能を発現する生体内分子の生体外排出促進効果を奏する。このような免疫グロブリン多量体または免疫グロブリン改変体を含む医薬組成物は、当該病原体または異常な機能を発現する生体内分子に関連する疾患、障害、状態などの予防または治療のために使用される。

[0086] 本開示において、疾患、障害または状態についての「治療」とは、当該疾患、障害または状態を改善または進行抑制するあらゆる処置を包含する。また、本開示において、疾患、障害または状態についての「予防」は、当該「疾患、障害または状態」を防止、遅延、または緩和させる、あらゆる処置を包含する。一態様において、当該「予防」は当該「疾患、障害または状態」を生じる素因を有する対象を処置する態様を包含する。

[0087] 上記病原体は生体内に疾患、障害、状態などに関連するあらゆる病原体を包含し、例えば、ウイルス、細菌、真菌、寄生虫を含むがこれらに限定されない。上記異常な機能を発現する生体内分子は、疾患、障害、状態などに関連する異常な機能を発現するあらゆる生体内分子を包含する。当該生体内分子として、対象の生物が本来有する分子が発現量の変化、構成の変異などに

より異常な機能を発現しているものを含むほか、病原体などによって移入されて生体内に存在する分子も含む。

[0088] 一態様において、本開示の免疫グロブリン多量体またはC末端多量体形成能促進領域に欠損を有する免疫グロブリン改変体はW27 IgAおよびその改変体を含み、C. difficile細菌に結合して疾患、障害、状態などを予防または治療する効果を奏する。

[0089] C. difficile細菌と関連する疾患とは、特に限定はされないが、例えば、炎症性腸疾患、潰瘍性大腸炎、クローン病、アレルギー、喘息、肥満、自己免疫疾患、新生児壊死性腸炎等が挙げられ、中でも炎症性腸疾患が好ましい。

[0090] このような本開示に係る医薬組成物は、本開示に係る免疫グロブリン多量体またはC末端多量体形成能促進領域に欠損を有する免疫グロブリン改変体の有効量を含んでいればよく、例えば、医薬組成物100重量%中の本開示に係る抗体の含有割合が0.001～99.99重量%の範囲になるように、対象とする疾患の種類、剤型、投与方法、投与対象、投与対象者の症状の度合い、並びに投与によって発揮される効果の程度等を勘案して、適宜設定することができる。

[0091] 本明細書にて使用する用語「有効量」とは、本開示に係る免疫グロブリン多量体またはC末端多量体形成能促進領域に欠損を有する免疫グロブリン改変体が生体において所望の生理効果を奏する量を意味する。

[0092] 本開示に係る医薬組成物には、本開示の免疫グロブリン多量体またはC末端多量体形成能促進領域に欠損を有する免疫グロブリン改変体と共に、薬学的に許容可能な担体または添加物を配合しても良い。薬学的に許容可能な担体或いは添加物とは、任意の担体、希釈剤、賦形剤、懸濁剤、潤滑剤、アジュバント、媒体、送達システム、乳化剤、錠剤分解物質、吸収剤、保存剤、界面活性剤、着色剤、香料、または甘味料を意味し、公知のものを採用すればよい。

[0093] この様な投与対象は、特に限定はされないが、例えばヒト、マウス、ラッ

ト、モルモット、ウサギ、ハムスター、イヌ、ネコ、イタチ、ウシ、ブタ等の哺乳類、ニワトリなどの鳥類等が挙げられる。

[0094] 当該医薬組成物の投与量並びに投与方法は、投与対象が罹患する疾患等の種類、性別、種、年齢、全身状態、疾患の重篤度、所望する効果の程度等に区々ではある。投与量としては、通常は、 $0.001 \sim 100 \text{ mg/kg}$ ／日の範囲で適宜設定すればよい。

[0095] また、投与方法については、特に限定はされないが、粘膜組織に投与することが好ましく、このような投与方法として、例えば経口投与、経鼻投与、経腸投与等が挙げられる。

[0096] なお、経腸投与とは、肛門を介した投与には限られず、例えば胃瘻等の様に個体外からチューブ等を消化管に挿入して、それを経由した投与も含まれる。消化管を挿入する位置は腸に限らず、食道、胃、小腸（十二指腸、空腸、回腸等を含む。）、大腸（盲腸、結腸、直腸等を含む。）等が挙げられる。

[0097] なお、このような本開示に係る医薬組成物の投与は、上記の量を1日に1度に投与してもよく、数回に分けて投与してもよい。また、上記疾患に対する治療効果を有する範囲において、投与間隔は、毎日、隔日、毎週、隔週、2～3週毎、毎月、隔月または2～3ヶ月毎でもよい。

[0098] （食品組成物および飼料組成物）

本開示に係る食品組成物または飼料組成物は、本開示に係る免疫グロブリン多量体またはC末端多量体形成能促進領域に欠損を有する免疫グロブリン改変体を含む。本開示に係る食品組成物は、一般の食品の他、条件付き特定保健用食品を含む特定保健用食品、栄養補助食品、機能性食品、病者用食品等、食品として摂取されるあらゆる形態を包含する。このような食品組成物または飼料組成物を使用することによって、本開示に係る免疫グロブリン多量体またはC末端多量体形成能促進領域に欠損を有する免疫グロブリン改変体の備える生理活性を利用することができる。食品組成物は、整腸用、腸内環境改善用、腸内環境最適化用、腸内腐敗防止用等と表示された食品組成物と

して提供することができる。

[0099] この様な食品組成物または飼料組成物における免疫グロブリン多量体またはC末端多量体形成能促進領域に欠損を有する免疫グロブリン改変体の配合割合は特に限定はされず、食品組成物または飼料組成物の形態、用途等に応じて適宜調整すればよい。通常は組成物の総量に対して、0.001～99重量％程度とすればよい。

[0100] 本開示に係る食品組成物または飼料組成物の摂取量は特に限定はされず、目的とする効果、その目的とする度合い、並びにその他の諸条件などに応じて設定することができる。例えば、本開示に係る免疫グロブリン多量体の量に換算して、通常は0.001～100mg/kg/日程度とすればよく、これを1日1回～数回に分けて摂取してもよい。

[0101] 上述の食品組成物の具体的な形態は特に限定はされないが、例えば、清涼飲料、炭酸飲料、栄養飲料、果実飲料、乳酸飲料、乳飲料等の飲料；アイスクリーム、アイスシャーベット、かき氷等の冷菓；飴、キャンディー、ガム、チョコレート、錠菓、スナック菓子、ビスケット、ゼリー、ジャム、クリーム、焼き菓子等の菓子類；そば、うどん、はるさめ、中華麺、即席麺等の麺類；かまぼこ、ハム、ソーセージ等の水産・畜産加工食品；加工乳、発酵乳等の乳製品；サラダ油、てんぷら油、マーガリン、マヨネーズ、ショートニング、ホイップクリーム、ドレッシング等の油脂及び油脂加工食品；ソース、たれ等の調味料；スープ、シチュー、サラダ、惣菜、ふりかけ、漬物、パン、シリアル等を例示できる。また、特定保健用食品、栄養補助食品、機能性食品等の場合であれば、粉末、顆粒、カプセル、トローチ、タブレット、シロップ等の形態が挙げられる。

[0102] 本開示に係る食品組成物または飼料組成物は、免疫グロブリン多量体またはC末端多量体形成能促進領域に欠損を有する免疫グロブリン改変体を含む組成物として提供される他、免疫グロブリンまたは多量体免疫グロブリンを発現する宿主細胞自体を含む組成物、免疫グロブリン多量体またはC末端多量体形成能促進領域に欠損を有する免疫グロブリン改変体を発現する宿主細胞

胞の培養液の一部または全体を含む組成物、または、前記宿主細胞と培養液の一部もしくは全体を含む組成物として提供することができる。一態様において、本開示の食品組成物または飼料組成物は、宿主細胞の培養過程、例えば発酵過程を経て製造される組成物として提供される。このような場合、培養物あるいは醸造発酵物をそのまま食品組成物としてもよく、醸造発酵物の一部を精製したものを食品組成物としてもよい。例えば、培養物あるいは醸造発酵物から宿主細胞を含む固形成分をろ過して液体組成物として提供することができる。このような組成物は、宿主細胞自体、宿主細胞の一部、宿主細胞の抽出物、宿主細胞の培地となる成分、あるいはこれらの混合物を含むことができる。このような食品組成物について、宿主細胞として糸状菌を用いた場合の非限定的な例は、みりん、酒、甘酒、味噌、醤油、塩麴、米麴、醤油麴、麦麴、豆麴、麴納豆、酒粕魚麴：魚醤のもと、ラギ（インドネシア）、ケチャップ（インドネシアの味噌、トマトは一切なし）、醬：ひしお酒醸、醪糟、餅麴、撒麴、チョングッチャン、鯉節およびその他の雑節等を含む。

[0103] 本開示の飼料組成物は、各種動物に対する整腸用、腸内環境改善用、腸内環境最適化用、腸内腐敗防止用等と表示された飼料組成物として提供することができる。

[0104] 上述の飼料組成物の具体的な形態は特に限定はされないが、例えば上述した本開示に係る飼料組成物が発揮する効果が損なわれない限りにおいて、通常の飼料に混合、又は必要に応じて通常の飼料に配合可能な成分と共に混合して飼料組成物とすればよく、飼料組成物そのものを飼料としてもよい。例えば、宿主細胞によって得られた発酵食品の製造に用いた搾りかすを配合して飼料とすることができる。

[0105] （試薬組成物）

本開示の試薬組成物は、免疫グロブリン多量体またはC末端多量体形成能促進領域に欠損を有する免疫グロブリン改変体の生理活性を利用する組成物として提供される。例えば、免疫グロブリン多量体またはC末端多量体形成

能促進領域に欠損を有する免疫グロブリン改変体の特異的抗原結合活性、結合した対象を凝集する活性を利用する試薬として提供される。このような試薬組成物は、対象分子の検出、定量、回収、排除などの目的に使用することができる。

[0106] (疾患等の予防または治療方法)

一態様において、本開示は疾患、障害または状態の予防または治療方法を提供する。典型的には、本開示の疾患、障害または状態の予防または治療方法は、本開示に係る免疫グロブリン多量体またはC末端多量体形成能促進領域に欠損を有する免疫グロブリン改変体の生理活性を利用する。本開示に係る免疫グロブリン多量体またはC末端多量体形成能促進領域に欠損を有する免疫グロブリン改変体は、疾患、障害、状態などに関連する生体内病原体または異常な機能を発現する生体内分子に結合し、当該病原体の生体内での増殖抑制効果、および／または当該病原体もしくは異常な機能を発現する生体内分子の生体外排出促進効果を奏する。このような免疫グロブリン多量体またはC末端多量体形成能促進領域に欠損を有する免疫グロブリンの生理活性を利用して、当該病原体または異常な機能を発現する生体内分子に関連する疾患、障害、状態などの予防または治療を必要とする対象に対して、当該疾患、障害、状態などの予防または治療方法を提供する。

[0107] 一態様において本開示の疾患、障害、状態などの予防または治療方法は、以下の構成を有する。

病原体または異常な機能を発現する生体内分子と関連する疾患、障害または状態の予防または治療を必要とする対象に対して、

前記病原体または異常な機能を発現する生体内分子と結合する免疫グロブリン多量体またはC末端多量体形成能促進領域に欠損を有する免疫グロブリンを含む組成物を投与する工程を含む、病原体または異常な機能を発現する生体内分子と関連する疾患、障害または状態を予防または治療する方法。

[0108] 一態様において、本開示の疾患、障害または状態の予防または治療方法は、免疫グロブリン多量体または免疫グロブリン改変体として W 2 7 I g A

およびその改変体を含み、当該免疫グロブリン多量体または免疫グロブリン改変体がC. difficile細菌に結合する作用を利用して、C. difficile細菌に関連する疾患、障害、状態などを予防または治療する方法を提供する。

[0109] 本開示の疾患、障害または状態の予防または治療方法は、当該疾患、障害または状態の予防または治療を必要とする対象に対して、本開示の免疫グロブリン多量体またはC末端多量体形成能促進領域に欠損を有する免疫グロブリン改変体を投与する工程を含む。

[0110] 上述の投与態様、投与対象、疾患については、上記（医薬組成物）にて説明した投与態様、投与対象、疾患とすればよい。

[0111] （試験、検査および診断方法）

一態様において、本開示は試験、検査および診断方法を提供する。典型的には、本開示の試験、検査および診断方法は、本開示に係る免疫グロブリン多量体またはC末端多量体形成能促進領域に欠損を有する免疫グロブリン改変体の特異的結合活性を利用する。本開示に係る免疫グロブリン多量体またはC末端多量体形成能促進領域に欠損を有する免疫グロブリン改変体は、試験試料、検査試料または生体内組織における対象分子に特異的に結合することができる。このような免疫グロブリン多量体またはC末端多量体形成能促進領域に欠損を有する免疫グロブリン改変体の特異的結合活性を利用して、試験試料、検査試料または生体内組織における対象分子の存在の有無、存在量の定量などを行うための試験、検査方法を提供する。さらに、一態様において、これらの試験、検査結果に基づいて、対象の状態、疾患、予後、疾患リスクなどを判別するための試験方法または診断方法を提供する。

[0112] 一態様において本開示の試験、検査および診断方法は以下の構成を有する。

試験試料、検査試料または生体内組織と、免疫グロブリン多量体またはC末端多量体形成能促進領域に欠損を有する免疫グロブリン改変体を接触させる工程；および

前記試験試料、検査試料または生体内組織内において、前記免疫グロブリン多量体またはC末端多量体形成能促進領域に欠損を有する免疫グロブリン改変体と結合する分子を検出または定量する工程を含む、試験、検査および診断方法。

実施例

[0113] 以下、実施例により本開示をさらに詳細に説明するが、これらは例示に過ぎず本開示を限定するものではない。

[0114] 方法と材料

1. DNA操作方法

DNA操作には大腸菌DH5 α を使用した。PCRには、PrimeSTARHS DNAポリメラーゼ (TaKaRa) を使用した。In-Fusion HDクローニングキット (TaKaRa) をプラスミド作製に使用した。プラスミドはアルカリSDS法により抽出した。塩基配列は、ファスマック株式会社での受託により解析を行った。

[0115] 2. 免疫グロブリンの定量と非還元SDS-PAGE

精製した免疫グロブリンの定量は、ELISA法で行った。免疫グロブリンの定量方法の詳細は以下の通りである。まず、Anti-goat-mouse IgA (Southern Biotech: 1040-01) を $2\mu\text{g}/\text{ml}$ になるように $0.05\text{M Na}_2\text{CO}_3$ で希釈して、C96 MaxiSorp Nunc-Immuno Plate (Thermo Fisher) (以下ELISAプレートとする) の各wellに $50\mu\text{l}/\text{well}$ ずつ加え、一晚 4°C で固相化させた。Vacuette/96 multiwell pipetter (Sigma-Aldrich) (以下プレートウォッシャー) を用いて、PBSによりプレートを3回洗浄後、 1% bovine serum albumin (BSA) (Wako) を含むPBS (PBS-BSA) を $150\mu\text{l}/\text{well}$ となるように加えて、 4°C で一晚静置してブロッキングを行った。抗体液の系列を96穴プレートで作成した。抗体液の希釈系列は、等倍 ($\times 1$ 、精製抗体の $\times 1$

／100と $\times 1/1000$ を $\times 1$ とする)、3倍($\times 1/3$)、10倍($\times 1/10$)、30倍($\times 1/30$)、100倍($\times 1/100$)、300倍($\times 1/300$)、1000倍($\times 1/1000$)、3000倍($\times 1/3000$)で、PBS-BSAを用いて段階希釈液を作成した。プレートからPBS-BSAを完全に取り除いた後、段階希釈液を $50\mu\text{l}/\text{well}$ となるように加えて室温で1時間静置して反応させた。

次に0.05% Tween 20 (Chem Cruz) を含むPBS (PBS-T) によりプレートウォッシャーで3回プレートを洗浄した後、2次抗体Alkaline Phosphatase (ALP)-conjugated anti-goat mouse IgA (Southern Biotech: 1040-04) をPBS-BSAに、終濃度 $0.5\mu\text{g}/\text{ml}$ となるように希釈し、 $50\mu\text{l}/\text{well}$ で加え、室温で1時間静置して反応させた。PBS-Tによりプレートウォッシャーで3回プレートを洗浄後、5mlの炭酸バッファー(6.5mM Na_2CO_3 、18.5mM NaHCO_3) に1M MgCl_2 $10\mu\text{l}$ とSubstrate for Alkaline Phosphatase (Sigma-Aldrich) 1錠を加えた基質溶液を $50\mu\text{l}/\text{well}$ で加えた。室温で遮光して静置後、十分に発色していることを目視で確認して、TriStar 2 LB942 (BERTHOLD TECHNOLOGIES) を使用してoptical density (O. D.) 405nmの吸光度を測定した。

[0116] 上記とは別に免疫グロブリン多量体が産生されているかどうかを非還元SDS-PAGEによって確認した。サンプル調製は、免疫グロブリン($5\mu\text{g}$) に $3\times$ Native buffer (0.2M Tris-HCl pH6.8、30% Glycerol、0.015% Bromophenol blue) を加えた。WIDE RANGE Gel Preparation Buffer (4X) for PAGE (Nacalai Tesque) を用いた6%のSDS-PAGE用ゲルを用いて泳動後、Coo

massie brilliant blue (CBB) 染色を行った。還元SDS-PAGEは2-ME添加のbufferをサンプルに加えたのちに95℃で10分間変性後に非還元と同じ6%のSDS-PAGE用ゲルを用いて泳動後、Coomassie brilliant blue (CBB) 染色を行った。

[0117] 3. 大腸菌に対する免疫グロブリン多量体の結合力の解析

免疫グロブリン多量体の結合力を比較するために、大腸菌に対するELISAを行った。大腸菌(DH5 α もしくはBW38092及びその変異体、いずれもK12株)について37℃好気培養(LB培地)を一晩行い、遠心分離により集めた。PBSで菌体を洗浄後0.05M Na₂CO₃バッファに細菌を懸濁し、ELISAプレートにコーティングした(4℃一晩)。上記の精製IgA抗体定量ELISAと同様に1%BSA添加PBSによるブロッキング後に、96穴プレート中の各抗体希釈系列を作製して加え、室温で約1時間反応させた。その後、プレートを0.05%Tween 20添加PBSで洗浄し、2次抗体Alkaline Phosphatase (ALP)-conjugated anti-goat mouse IgA (Southern Biotech: 1040-04)をPBS-BSAに、終濃度0.5 μ g/mlとなるように希釈し、50 μ l/wellで加え、室温で1時間静置して反応させた。PBS-Tによりプレートウォッシャーで3回プレートを洗浄後、Alkali Phosphatase tablet (Sigma)を使用して上記と同様に発色反応を行った。十分な反応のために、発色後のELISAプレートを4度で一晩反応させ、TriStar 2 LB942 (BERTHOLD TECHNOLOGIES)を使用し、OD_{405 nm}を測定した。

[0118] 4. Clostridioides difficile (C. difficile) 菌に対する免疫グロブリン多量体のインビトロ増殖抑制試験

一晩嫌気培養したC. difficileを、1チューブあたり10,000 cfuとなるように希釈し、試験抗体をそれぞれ2.4 mg/m

1となるように加え、嫌気培養を行なった。6時間後に菌液を希釈し、プレーティング後さらに嫌気培養によりコロニー数を計測した。試験抗体として rW27 の 5 量体 IgA 抗体（配列番号 4 : CHO W27 not a i l C O M P を有する重鎖および抗体 RS__H000__L001（国際公開 2014 / 142084 号参照）の軽鎖を有する IgA からなる 5 量体 IgA 抗体）、rW27 の 2 量体 IgA 抗体（抗体 RS__H000__L001（国際公開 2014 / 142084 号参照）の重鎖および軽鎖を有する IgA および J 鎖からなる 2 量体 IgA 抗体）、およびコントロール 2 量体 IgA 抗体を用いた。

[0119] 5. C. difficile 菌に対する免疫グロブリン多量体の腸炎抑制効果

WO 2023 / 277166 と同様の方法により、試験抗体をマウスに経口投与して腸炎抑制効果を試験した。

具体的には、C. difficile 菌株（VPI10483）の芽胞液を作製し小分けにして -80 度保存した。芽胞液を解凍して培養後に C.

difficile 菌選択培地プレート（TCFA プレート）に播種して得られる生細菌数をあらかじめ求めた。

芽胞の作製方法は以下のようなものである。

C. difficile を SMC 培地にプレーティングし、37 °C で 7 日間嫌気培養した。プレートに氷冷滅菌水 3 ml を加えて、セルスクレーパーでコロニーを掻き取り、50 ml チューブに移した。さらに氷冷滅菌水 3 ml でプレートを洗浄し、洗浄液も同じチューブへ移した。8,000 g、4 °C で 10 分間遠心した後に、上清を捨てて氷冷滅菌水 20 ml で菌体を懸濁した。再び 8,000 g、4 °C で 10 分間遠心後、上清を捨てて氷冷滅菌水 10 ml で懸濁した。懸濁後、エタノール 10 ml を加えてボルテックスで攪拌させて、室温で 1 時間静置した。8,000 g、4 °C で 10 分間遠心し、上清を捨てて氷冷滅菌水 20 ml で菌体を懸濁した。この操作を 2 回繰り返し、上清を廃棄してから、氷冷滅菌水 5 ml で懸濁した。1.5 ml

1チューブに100 μ lずつ分注し、-80℃で保存した。SMC培地組成を以下に示す。

SMC培地組成

試薬名	使用量
B a c t o P e p t o n e	18 g
B a c t o P r o t e o s e P e p t o n e	1 g
硫酸アンモニウム	200 mg
T r i s	300 mg
A g a r	3 g

上記試薬を滅菌蒸留水200mlに溶解し、オートクレーブ滅菌した。60℃くらいまで冷めたら、10% (w/v) L-cysteine 600 μ lを加え、10cmプレートに適量ずつ分注した。

[0120] C. difficile菌選択培地プレートは、下記表1の試薬を滅菌蒸留水400mlに溶解し、オートクレーブ滅菌した。60℃まで自然冷却させ、Cycloserine (Sigma-Aldrich) (50mg/ml) 2mlとCefoxitin (Sigma-Aldrich) (1.6mg/ml) 2mlを加え、10cmプレートに適量ずつ分注して作成した。

[0121] (表1) C. difficile選択培地組成

試薬名	使用量
B a c t o P r o t e o s e P e p t o n e	20 g
りん酸水素二ナトリウム十二水和物	2.68 g
りん酸二水素カリウム	0.4 g
塩化ナトリウム	0.8 g
硫酸マグネシウム	0.048 g
D-(-)-Fructose	2.4 g
Taurocholic acid sodium salt hydrate	0.4 g
A g a r	6.64 g
Neutral Red Solution (0.3%)	1 ml

[0122] C57BL/6マウス（8週齢）を日本クレアから購入し、感染実験用滅菌アイソレーター内で一週間馴化後、3種混合抗生剤（ゲンタマイシン：500mg/kg、カナマイシン：150mg/kg、メトロニダゾール：50mg/kg）を、ゾンデを用いて4日間経口投与を行った。4日後に各マウスの体重を測定し、抗生剤投与により体重減少が起こった個体は除外し、残りのマウスをランダムに群わけした。抗生剤投与終了の次の日に、C. difficile菌芽胞（ 1.0×10^3 cfu）をゾンデで各マウスに経口感染させた。6時間後に試験抗体を300μgずつゾンデで経口投与を行った（各試験抗体についてマウスn=6）。試験抗体としてrW27の5量体IgA抗体（配列番号4：CHO W27 not a i l COMPを有する重鎖および抗体RS__H000__L001（国際公開2014/142084号参照）の軽鎖を有するIgAからなる5量体IgA抗体）、rW27の2量体IgA抗体（抗体RS__H000__L001（国際公開2014/142084号参照）の重鎖および軽鎖を有するIgAおよびJ鎖からなる2量体IgA抗体）、およびコントロール2量体IgA抗体を用いた。その後、計7日間、1日一回300μgずつ抗体投与を行った。8日目以降は抗体投与を行わずに経過観察した。

[0123] 実施例1：C末端多量体形成能促進領域に欠損を有する免疫グロブリンの作成

C末端多量体形成能促進領域に欠損を有する免疫グロブリンについて、多量体形成に与える影響を検討した。

[0124] 免疫グロブリンをコードする遺伝子およびこれを含むベクターの作成、CHO細胞への導入については定法に従い、WO2023/277166の実施例8の記載される方法と同様に行った。

[0125] 例示の免疫グロブリンとして、国際公開2014/142084号に記載されるW27抗体およびW27抗体のCHO細胞産生リコンビナントIgAであって、軽鎖にプロテインL結合のための変異を導入したRS__H000__L001（W27 IgA）を用いた（特願2021-110421を参

照)。

W27 IgA抗体を用い、天然のL鎖および以下の構成を有する融合タンパク質をH鎖とするIgAをコードする核酸構築物を用いて、定法によりゲノム改変CHO細胞を作製し、分泌されたIgAの多量体形成状態について検討した。

構成名	H鎖の構成	H鎖のアミノ酸配列名／配列番号
AAcomp	全長H鎖のC末端に、アミノ酸配列SSADDAAADAAAADDAAADDAASからなるリンカーを介してCOMP配列が融合されている。	配列番号8
KKcomp	全長H鎖のC末端に、アミノ酸配列SSADDAKKDAKKDDAKKDDAKKDAASからなるリンカーを介してCOMP配列が融合されている。	配列番号9
direct-comp	全長H鎖のC末端に、リンカーを介さずにCOMP配列が融合されている。	配列番号10
notail-comp	tail pieceを欠くH鎖のC末端に、リンカーを介さずにCOMP配列が融合されている。	配列番号1

[0126] 以下に、各構成を有するIgA重鎖のアミノ酸配列およびこれをコードする核酸配列を示す。なお、CHO細胞内で発現させる際には、N末端にmouse IgVシグナル配列「MKCSWIIFFLMAVVTGVNS」を付加した。

>配列番号8：CHO W27 HAACOMP IgA H鎖 アミノ酸配列（シグナル配列無し）

EVQLQQSGSELVKSGASVKLSCTVSGFNFTDYYIHWVRQRTEQGLEWIGRIDPENDETT
YAPKFQ GKATMTADTSSNTAYLQLTSLTSED TAVYYCARSTVLDYWGHTTLTVSSESA
RNPTIYPLTLPRALSSDPVIIGCLIHDFPSGTMNVTWKGSGKDITTVNFPPALASGGG
YTMSSQLTLPAVECPGESVKCSVQHDSNAVQELDVKCSGPPPPCPPCPPSCHPSLSLQ
RPALEDLLLGS DASLTCTLNGLRNPEGAVFTWEPSTGKDAVQKKAVQNSCGCYSVSSVL
PGCAERWNSGASFKCTVTHPESDTLTGTIAKITVNTFPPQVHLLPPPSEELALNELVSL
TCLVRAFPNPKEVLVRWLHGNEELSPESYLVFEPLKEPGEGATTYLVTSVLRVSAELWKQ
GDQYSCMVGHEALPMNFTQKTIDRLSGKPTNVSVSVIMSEGDGICYSSADDAADAAAA
DDAAADDAADASNSEGQIPLGGDLAPQMLRELQETNAALQDVRELLRQQVKEITFLKN
TVMECDACGMQPARTPG*

>配列番号9：CHO W27 HKKCOMP IgA H鎖 アミノ酸配列（シグナル配列

無し)

EVQLQQSGSELVKSGASVKLSCTVSGFNFTDYIIHWVRQRTEQGLEWIGRIDPENDETT
YAPKFQ GKATMTADTSSNTAYLQLTSLTSED TAVYYCARSTVLDYWG HGTTTLTVSSESA
RNPTIYPLTLPRALSSDPV IIGCLIHDFPSGTMNVTWGKSGKDITTVNFPPALASGGG
YTMSSQLTLPAVECP EGESVKCSVQHDSNAVQELDVKCSGPPPPCPPCPPSCHPSLSLQ
RPALEDLLLGS DASLTCTLNGLRNPEGAVFTWEPSTGKDAVQKKAVQNSCGCYSVSSVL
PGCAERWNSGASF KCTVTHPESDTLTGTIAKITVNTFPPQVHLLPPPSEELALNELVSL
TCLVRAFPNPKEVLVRWLHGNEELSPESYLVFEPLKEPGEGATTYLVTSVLRVSAELWKQ
GDQYSCMVGHEALPMNFTQKTIDRLSGKPTNVSVSVIMSEGDGICYSSADDAKKDAAAA
DDKKADDAKKDASNSEGQIPLGGDLAPQMLRELQETNAALQDVRELLRQQVKEITFLKN
TVMECDACGMQPARTPG*

>配列番号 1 O : CH0 W27HdirectCOMP IgA H アミノ酸配列 (シグナル配
列無し)

EVQLQQSGSELVKSGASVKLSCTVSGFNFTDYIIHWVRQRTEQGLEWIGRIDPENDETT
YAPKFQ GKATMTADTSSNTAYLQLTSLTSED TAVYYCARSTVLDYWG HGTTTLTVSSESA
RNPTIYPLTLPRALSSDPV IIGCLIHDFPSGTMNVTWGKSGKDITTVNFPPALASGGG
YTMSSQLTLPAVECP EGESVKCSVQHDSNAVQELDVKCSGPPPPCPPCPPSCHPSLSLQ
RPALEDLLLGS DASLTCTLNGLRNPEGAVFTWEPSTGKDAVQKKAVQNSCGCYSVSSVL
PGCAERWNSGASF KCTVTHPESDTLTGTIAKITVNTFPPQVHLLPPPSEELALNELVSL
TCLVRAFPNPKEVLVRWLHGNEELSPESYLVFEPLKEPGEGATTYLVTSVLRVSAELWKQ
GDQYSCMVGHEALPMNFTQKTIDRLSGKPTNVSVSVIMSEGDGICYNSEGQIPLGGDLA
PQMLRELQETNAALQDVRELLRQQVKEITFLKNTVMECDACGMQPARTPG*

>配列番号 1 (前掲) : CH0 W27notailCOMP IgA H アミノ酸配列 (シグナ
ル配列無し)

EVQLQQSGSELVKSGASVKLSCTVSGFNFTDYIIHWVRQRTEQGLEWIGRIDPENDETT
YAPKFQ GKATMTADTSSNTAYLQLTSLTSED TAVYYCARSTVLDYWG HGTTTLTVSSESA
RNPTIYPLTLPRALSSDPV IIGCLIHDFPSGTMNVTWGKSGKDITTVNFPPALASGGG
YTMSSQLTLPAVECP EGESVKCSVQHDSNAVQELDVKCSGPPPPCPPCPPSCHPSLSLQ
RPALEDLLLGS DASLTCTLNGLRNPEGAVFTWEPSTGKDAVQKKAVQNSCGCYSVSSVL
PGCAERWNSGASF KCTVTHPESDTLTGTIAKITVNTFPPQVHLLPPPSEELALNELVSL
TCLVRAFPNPKEVLVRWLHGNEELSPESYLVFEPLKEPGEGATTYLVTSVLRVSAELWKQ
GDQYSCMVGHEALPMNFTQKTIDRLSGKNSEGQIPLGGDLAPQMLRELQETNAALQDVR
ELLRQQVKEITFLKNTVMECDACGMQPARTPG*

>配列番号 1 1 : CH0 W27HAACOMPの塩基配列(N末端シグナル配列を含む)

ATGAAATGCAGCTGGATCATCTTCTTCCTGATGGCAGTGGTTACAGGGGTCAATTCAGAGGTTTCAGC
TGCAGCAGTCTGGGTTCAGAGCTTGTGAAGTCTGGGGCCTCAGTCAAGTTGTCCTGCACAGTTTCTGG
GTTCAACTTTACAGACTACTATATACACTGGGTGAGGCAGAGGACTGAACAGGGCCTGGAATGGATT
GGAAGGATTGATCCTGAGAATGATGAAACTACATATGCCCCGAAATTCAGGGCAAGGCCACTATGA
CAGCAGACACATCTTCCAACACAGCCTACCTGCAGCTCACCAGCCTGACATCTGAAGACACTGCCGT
CTATTACTGTGCTAGATCTACGGTCCCTTGACTACTGGGGCCACGGCACCACTCTCACAGTCTCCTCA
GAGTCTGCGAGAAATCCCACCATCTACCCACTGACACTCCCACGAGCTCTGTCAAGTGACCCAGTGA
TAATCGGCTGCCTGATTCACGATTACTTCCCTTCCGGCACGATGAATGTGACCTGGGGAAAGAGTGG
GAAGGATATAACCACCGTAAACTTCCCACCTGCCCTGGCCTCTGGGGGAGGGTACACCATGAGCAGC
CAGTTGACCCCTGCCAGCTGTGAGTGCCCAGAAGGAGAATCCGTGAAATGTTCCGTGCAACATGACT
CTAACGCCCTCCAAGAATTGGATGTGAAGTGCTCTGGTCCTCCTCCTCCTTGTCCTCCTTGTCCTCC
TTCCTGCCATCCCAGCCTGTCACTGCAGCGGCCAGCTCTTGAGGACCTGCTCCTGGGTTCAGATGCC
AGCCTCACATGTACTCTGAATGGCCTGAGAAATCCTGAGGGAGCTGTCTTACCTGGGAGCCCTCCA
CTGGGAAGGATGCAGTGCAGAAGAAAGCTGTGCAGAATTCCTGCGGCTGCTACAGTGTGTCCAGCGT
CCTGCCCTGGCTGTGCTGAGCGCTGGAACAGTGGCGCATCATTCAAGTGCACAGTTACCCATCCTGAG
TCTGACACCTTAACTGGCACAATTGCCAAAATCACAGTGAACACCTTCCCACCCCAGGTCCACCTGC
TACCGCCGCCGTCGGAGGAGCTGGCCCTGAATGAGCTCGTGTCCCTGACATGCCTGGTGCGAGCTTT
CAACCCATAAAGAAGTGCTGGTGCGATGGCTGCATGGAAATGAGGAGCTGTCCCCAGAAAGCTACCTA
GTGTTTGAGCCCCATAAAGGAGCCAGGCGAGGGAGCCACCACCTACCTGGTGACAAGCGTGTTGCGTG
TATCAGCTGAACTCTGGAACAGGGTGACCAGTACTCCTGCATGGTGGGCCACGAGGCCTTGCCCCAT
GAACTTCACCCAGAAGACCATCGACCGTCTGTGCGGTAAACCCACCAATGTCAGCGTGTCTGTGATC
ATGTCAGAGGGAGATGGCATCTGCTACTCCTCCGCTGACGATGCCGCTGCTGATGCTGCCGCCGCCG
ATGATGCTGCTGCTGACGACGCCGCTGCTGACGCTTCCAACCTCCGAGGGCCAGATCCCCTGGGTGG
AGACCTGGCCCCACAGATGCTGCGAGAACTTCAGGAGACTAATGCGGCGCTGCAAGACGTGAGAGAG
CTGTTGCGACAGCAGGTCAAGGAGATCACCTTCCTGAAGAATACGGTGATGGAATGTGATGCTTGCG
GAATGCAGCCCCGCACGCACTCCAGGCTGA

>配列番号 1 2 : CH0 W27HKKCOMPの塩基配列の塩基配列(N末端シグナル配列を含む)

ATGAAATGCAGCTGGATCATCTTCTTCCTGATGGCAGTGGTTACAGGGGTCAATTCAGAGGTTTCAGC
TGCAGCAGTCTGGGTTCAGAGCTTGTGAAGTCTGGGGCCTCAGTCAAGTTGTCTGCACAGTTTCTGG
GTTCAACTTTACAGACTACTATATACACTGGGTGAGGCAGAGGACTGAACAGGGCCTGGAATGGATT
GGAAGGATTGATCCTGAGAATGATGAAACTACATATGCCCCGAAATTCAGGGCAAGGCCACTATGA
CAGCAGACACATCTTCCAACACAGCCTACCTGCAGCTCACCAGCCTGACATCTGAAGACACTGCCGT
CTATTACTGTGCTAGATCTACGGTCCTTGACTACTGGGGCCACGGCACCACTCTCACAGTCTCCTCA
GAGTCTGCGAGAAATCCCACCATCTACCCACTGACACTCCCACGAGCTCTGTCAAGTGACCCAGTGA
TAATCGGCTGCCTGATTACGATTACTTCCCTTCCGGCACGATGAATGTGACCTGGGGAAAAGAGTGG
GAAGGATATAACCACCGTAAACTTCCCACCTGCCCTGGCCTCTGGGGGAGGGTACACCATGAGCAGC
CAGTTGACCCTGCCAGCTGTCGAGTGCCAGAGAAGGAGAATCCGTGAAATGTTCCGTGCAACATGACT
CTAACGCCGTCCAAGAATTGGATGTGAAGTGCTCTGGTCTCCTCCTCCTTGTCTCCTTGTCTCCTCC
TTCTGCCATCCCAGCCTGTCACTGCAGCGGCCAGTCTTGAGGACCTGCTCCTGGGTTTCAGATGCC
AGCCTCACATGTACTCTGAATGGCCTGAGAAATCCTGAGGGAGCTGTCTTACCTGGGAGCCCTCCA
CTGGGAAGGATGCAGTGCAGAAGAAAGCTGTGCAGAATTCCTGCGGCTGCTACAGTGTGTCCAGCGT
CCTGCCTGGCTGTGCTGAGCGCTGGAACAGTGGCGCATCATTCAAGTGCACAGTTACCCATCCTGAG
TCTGACACCTTAACTGGCACAATTGCCAAAATCACAGTGAACACCTTCCCACCCCAGGTCCACCTGC
TACCGCCGCCGTGCGAGGAGCTGGCCCTGAATGAGCTCGTGTCCCTGACATGCCTGGTGCGAGCTTT
CAACCCTAAAGAAGTGCTGGTGCGATGGCTGCATGGAAATGAGGAGCTGTCCCCAGAAAGCTACCTA
GTGTTTGAGCCCCTAAAGGAGCCAGGCGAGGGAGCCACCACCTACCTGGTGACAAGCGTGTTCGCTG
TATCAGCTGAACTCTGGAACAGGGTGACCAGTACTCCTGCATGGTGGGGCCACGAGGCCCTTGCCCAT
GAACTTCACCCAGAAGACCATCGACCGTCTGTGCGGTAAACCCACCAATGTCAGCGTGTCTGTGATC
ATGTCAGAGGGAGATGGCATCTGCTACAGCTCGGCAGACGATGCCAAGAAAGATGCAGCCAAGAAAG
ACGATGCCAAGAAAGACGACGCCAAGAAAGACGCTTCCAATTCAGAGGGCCAGATCCCGCTGGGTGG
AGACCTGGCCCCACAGATGCTGCGAGAACTTCAGGAGACTAATGCGGCGCTGCAAGACGTGAGAGAG
CTGTTGCGACAGCAGGTCAAGGAGATCACCTTCCTGAAGAATACGGTGATGGAATGTGATGCTTGCG
GAATGCAGCCCGCACGCACTCCAGGCTGA

>配列番号 13 : CH0 W27HdirectCOMPの塩基配列の塩基配列(N末端シグナル
配列を含む)

ATGAAATGCAGCTGGATCATCTTCTTCTGATGGCAGTGGTTACAGGGGTCAATTCAGAGGTTTCAGC
TGCAGCAGTCTGGGTTCAGAGCTTGTGAAGTCTGGGGCCTCAGTCAAGTTGTCCTGCACAGTTTCTGG
GTTCAACTTTACAGACTACTATATACACTGGGTGAGGCAGAGGACTGAACAGGGCCTGGAATGGATT
GGAAGGATTGATCCTGAGAATGATGAAACTACATATGCCCCGAAATTCAGGGCAAGGCCACTATGA
CAGCAGACACATCTTCCAACACAGCCTACCTGCAGCTCACCAGCCTGACATCTGAAGACACTGCCGT
CTATTACTGTGCTAGATCTACGGTCCTTGACTACTGGGGCCACGGCACCCTCTCACAGTCTCCTCA
GAGTCTGCGAGAAATCCCACCATCTACCCACTGACACTCCCACGAGCTCTGTCAAGTGACCCAGTGA
TAATCGGCTGCCTGATTACGATTACTTCCCTTCCGGCACGATGAATGTGACCTGGGGAAAGAGTGG
GAAGGATATAACCACCGTAACTTCCCACCTGCCCTGGCCTCTGGGGGAGGGTACACCATGAGCAGC
CAGTTGACCCTGCCAGCTGTCGAGTGCCAGAAGGAGAATCCGTGAAATGTTCCGTGCAACATGACT
CTAACGCCGTCCAAGAATTGGATGTGAAGTGCTCTGGTCCTCCTCCTCCTTGTCTCCTTGTCTCCTCC
TTCCTGCCATCCCAGCCTGTCACTGCAGCGCCAGCTCTTGAGGACCTGCTCCTGGGTTCAGATGCC
AGCCTCACATGTACTCTGAATGGCCTGAGAAATCCTGAGGGAGCTGTCTTACCTGGGAGCCCTCCA
CTGGGAAGGATGCAGTGCAGAAGAAAGCTGTGCAGAATTCCTGCGGCTGCTACAGTGTGTCCAGCGT
CCTGCCTGGCTGTGCTGAGCGCTGGAACAGTGGCGCATCATTCAAGTGCACAGTTACCCATCCTGAG
TCTGACACCTTAACTGGCACAATTGCCAAAATCACAGTGAACACCTTCCCACCCCAGGTCCACCTGC
TACCGCCGCCGTTCGGAGGAGCTGGCCCTGAATGAGTTCGTGTCCTGACATGCCTGGTGCGAGCTTT
CAACCCTAAAGAAGTGCTGGTGCGATGGCTGCATGGAAATGAGGAGCTGTCCCCAGAAAGCTACCTA
GTGTTTGAGCCCCCTAAAGGAGCCAGGCGAGGGAGCCACCACCTACCTGGTGACAAGCGTGTTGCGTG
TATCAGCTGAACCTCTGGAAACAGGGTGACCAGTACTCCTGCATGGTGGGCCACGAGGCCCTTGCCCAT
GAACTTCACCCAGAAGACCATCGACCGTCTGTGCGGTAAACCCACCAATGTCAGCGTGCTGTGTGATC
ATGTCAGAGGGAGATGGCATCTGCTACAATTCAGAGGGCCAGATCCCGCTGGGTGGAGACCTGGCCC
CACAGATGCTGCGAGAACTTCAGGAGACTAATGCGGCGCTGCAAGACGTGAGAGAGCTGTTGCGACA
GCAGGTCAAGGAGATCACCTTCCTGAAGAATACGGTGATGGAATGTGATGCTTGCGGAATGCAGCCC
GCACGCACTCCAGGCTGA

＞配列番号 2 : CH0 W27HnotailCOMPの塩基配列の塩基配列(N末端シグナル配
列を含む)

ATGAAATGCAGCTGGATCATCTTCTTCCTGATGGCAGTGGTTACAGGGGTCAATTCAGAGGTTTCAGC
TGCAGCAGTCTGGGTGAGAGCTTGTGAAGTCTGGGGCCTCAGTCAAGTTGTCTGCACAGTTTCTGG
GTTCAACTTTACAGACTACTATATACACTGGGTGAGGCAGAGGACTGAACAGGGCCTGGAATGGATT
GGAAGGATTGATCCTGAGAAATGATGAACTACATATGCCCCGAAATTCAGGGCAAGGCCACTATGA
CAGCAGACACATCTTCCAACACAGCCTACCTGCAGCTCACCAGCCTGACATCTGAAGACACTGCCGT
CTATTACTGTGCTAGATCTACGGTCCCTTGACTACTGGGGCCACGGCACCCTCTCACAGTCTCCTCA
GAGTCTGCGAGAAATCCCACCATCTACCCACTGACACTCCCACGAGCTCTGTCAAGTGACCCAGTGA
TAATCGGCTGCCTGATTCACGATTACTTCCCTTCCGGCACGATGAATGTGACCTGGGGAAAGAGTGG
GAAGGATATAACCACCGTAAACTTCCCACCTGCCCTGGCCTCTGGGGGAGGGTACACCATGAGCAGC
CAGTTGACCCTGCCAGCTGTCGAGTGCCGAGAAGGAGAATCCGTGAAATGTTCCGTGCAACATGACT
CTAACGCCGTCCAAGAATTGGATGTGAAGTGCTCTGGTCCTCCTCCTCCTTGTCTCCTTGTCTCCTCC
TTCCTGCCATCCCAGCCTGTCACTGCAGCGGCCAGCTCTTGAGGACCTGCTCCTGGGTTTCAGATGCC
AGCCTCACATGTACTCTGAATGGCCTGAGAAATCCTGAGGGAGCTGTCTTCACCTGGGAGCCCTCCA
CTGGGAAGGATGCAGTGCAGAAGAAAGCTGTGCAGAATTCCTGCGGCTGCTACAGTGTGTCCAGCGT
CCTGCCTGGCTGTGCTGAGCGCTGGAACAGTGGCGCATCATTCAAGTGCACAGTTACCCATCCTGAG
TCTGACACCTTAACTGGCACAAATTGCCAAAATCACAGTGAACACCTTCCCACCCCAGGTCCACCTGC
TACCGCCGCCGCTCGGAGGAGCTGGCCCTGAATGAGCTCGTGTCCCTGACATGCCTGGTGCGAGCTTT
CAACCCTAAAGAAGTGCTGGTGCGATGGCTGCATGGAAATGAGGAGCTGTCCCCAGAAAGCTACCTA
GTGTTTGAGCCCCCTAAAGGAGCCAGGCGAGGGAGCCACCACCTACCTGGTGACAAGCGTGTTGCGTG
TATCAGCTGAACTCTGGAAACAGGGTGACCAGTACTCCTGCATGGTGGGGCCACGAGGCCCTTGCCCAT
GAACTTCACCCAGAAGACCATCGACCGTCTGTGCGGTAAAAATTCAGAGGGCCAGATCCCGCTGGGT
GGAGACCTGGCCCCACAGATGCTGCGAGAACTTCAGGAGACTAATGCGGCGCTGCAAGACGTGAGAG
AGCTGTTGCGACAGCAGGTCAAGGAGATCACCTTCCTGAAGAATACGGTGATGGAATGTGATGCTTG
CGGAATGCAGCCCCGCACGCACTCCAGGCTGA

[0127] なお、W27 IgA抗体の軽鎖は、W27抗体のCHO細胞産生リコンビナントIgAの改変体（RS__H000__L001）（国際公開2023/277142号参照）の軽鎖と同一のアミノ酸配列を有し、その軽鎖可変領域（RS__LV001）のアミノ酸配列は、プロテインL結合のための変異を有している。

>RS__LV001（配列番号3）（前掲）

MKLPVRLVLVLMFWIPGFSSDVLMTQSPASLSVSLGDRATISCRASQSIVHTNGNTYLEW
YLQKPGQSPKLLIYKVSNRFSGVDPDRFSGSGSGTDFILKISRVEAEDLGVIYCFQGSHV
PPTFGGGTKLEVK*

[0128] 図5に示すように、IgAのH鎖C末端領域の構成およびリンカーの構成はIgAの多量体形成に影響し得ることが確認された。特に、リンカーを用

いずにCOMP配列を結合したH鎖を用いた場合、特に、IgAのC末端領域を一部削除してCOMP配列を結合したH鎖を用いた場合に、より多量体として産生されるIgAの割合が多くなることが観察された。

[0129] 実施例2：免疫グロブリン多量体の結合特性

免疫グロブリン多量体として、多量体化されたW27 IgAについて大腸菌に対する結合力を確認した。なお、国際公開2014/142084号に記載するように、哺乳類細胞で発現したW27 IgA抗体は大腸菌に結合することが知られている。CHO細胞から分泌された多量体化されたW27 IgAを精製して、これらのIgA多量体による大腸菌結合能を試験した。なお、比較のために改変を有しないW27をCHO細胞で発現することで得たW27 IgA単量体(W27 monomer)およびW27 IgA二量体(W27 dimer)を同時に試験した。

大腸菌に対する結合力を測定した結果、図6に示すように、CHO細胞から分泌されたW27 IgA抗体多量体は、いずれもW27 IgA単量体(W27 monomer)およびW27 IgA二量体(W27 dimer)に比して極めて高い結合力を示した。さらに、CHO細胞から分泌されたW27 IgA抗体多量体のうち、C末端領域を欠き、リンカーを用いることなくCOMPと結合したW27 notailCOMPが、大腸菌に対して最も高い結合を示した。

[0130] 実施例3：免疫グロブリン多量体のC. difficile菌増殖抑制効果(インビトロ)

免疫グロブリン多量体として、多量体化されたW27 IgAについてC. difficile菌に対する増殖抑制効果を試験した。

その結果、rW27 5量体IgA抗体およびrW27 2量体IgA抗体はいずれも、C. difficile菌に対してコントロール2量体IgA抗体に比して優れた増殖抑制効果を示した。

本結果は、免疫グロブリン多量体であるrW27 5量体IgA抗体およびrW27 2量体IgA抗体がインビトロにおいて、優れたC. dif

f i c i l e 菌増殖抑制効果を有することを示している。

[0131] 実施例 4：免疫グロブリン多量体の C. *d i f f i c i l e* 菌関連腸炎抑制効果（インビボ）

免疫グロブリン多量体として、*r W 2 7* 5 量体 *I g A* 抗体および *r W 2 7* 2 量体 *I g A* 抗体の C. *d i f f i c i l e* 菌関連腸炎抑制効果をインビボ試験投与により確認した。

その結果、*r W 2 7* 2 量体 *I g A* 抗体はコントロール 2 量体 *I g A* 抗体に比して若干の生存率向上効果を示した。一方、*r W 2 7* 5 量体 *I g A* 抗体は、*r W 2 7* 2 量体 *I g A* 抗体はおよびコントロール 2 量体 *I g A* 抗体に比して顕著に優れた生存率向上効果を示した（ $p = 0.0295$ ）。

その結果、特に *r W 2 7* 5 量体 *I g A* 抗体は、インビボにおいて優れた C. *d i f f i c i l e* 菌関連腸炎抑制効果を有することが判明した。

[0132] 本開示に記載する配列情報を以下に再掲する。

＞配列番号 1：CH0 W27notailCOMP IgA H アミノ酸配列（シグナル配列無し）

```
EVQLQQSGSELVKSGASVKLSCTVSGFNFTDYYIHVWRQRTEQGLEWIGRIDPENDETTYAPKFQGK
ATMTADTSSNTAYLQLTSLTSEDVAVYYCARSTVLDYWGHTTLTVSSESARNPTIYPLTLPRALSS
DPVIIGCLIHDFPSGTMNVTWKGSGKDITTVNFPPALASGGGYTMSSQLTLPAVECPGESVKCSV
QHDSNAVQELDVKCSGPPPPCPPPPSCHPSLSLQRPALDLLLLGSDASLTCTLNGLRNPEGAVFTW
EPSTGKDAVQKKAVQNSCGCYSVSSVLPGCAERWNSGASFKCTVTHPESDTLTGTIAKITVNTFPPQ
VHLLPPPSEELALNELVSLTCLVRAFNPKVLRWLHGNEELSPESYLVFEPLKEPGEGATTYLVTS
VLRVSAELWKQGDQYSCMVGHEALPMNFTQKTIDRLSGKNSEGQIPLGGDLAPQMLRELQETNAALQ
DVRELLRQQVKEITFLKNTVMECDACGMQPARTPG*
```

＞配列番号 2：CH0 W27HnotailCOMPの塩基配列の塩基配列(N末端mouse IgVシグナル配列「MKCSWIIFFLMAVVTGVNS」をコードする部分を含む)

ATGAAATGCAGCTGGATCATCTTCTTCTGATGGCAGTGGTTACAGGGGTCAATTCAGAGGTTTCAGC
TGCAGCAGTCTGGGTTCAGAGCTTGTGAAGTCTGGGGCCTCAGTCAAGTTGTCTGCACAGTTTCTGG
GTTCAACTTTACAGACTACTATATACACTGGGTGAGGCAGAGGACTGAACAGGGCCTGGAATGGATT
GGAAGGATTGATCCTGAGAATGATGAAACTACATATGCCCCGAAATTCAGGGCAAGGCCACTATGA
CAGCAGACACATCTTCCAACACAGCCTACCTGCAGCTCACCAGCCTGACATCTGAAGACACTGCCGT
CTATTACTGTGCTAGATCTACGGTCCTTGACTACTGGGGCCACGGCACCCTCTCACAGTCTCCTCA
GAGTCTGCGAGAAATCCCACCATCTACCCACTGACACTCCCACGAGCTCTGTCAAGTGACCCAGTGA
TAATCGGCTGCCTGATTACGATTACTTCCCTTCCGGCACGATGAATGTGACCTGGGGAAAGAGTGG
GAAGGATATAACCACCGTAAACTTCCCACCTGCCCTGGCCTCTGGGGGAGGGTACACCATGAGCAGC
CAGTTGACCCTGCCAGCTGTCGAGTGCCAGAGAAGGAGAATCCGTGAAATGTTCCGTGCAACATGACT
CTAACGCCGTCCAAGAATTGGATGTGAAGTGCTCTGGTCCTCCTCCTCCTTGCTCCTTGCTCCTCC
TTCTTGCCATCCCAGCCTGTCACTGCAGCGGCCAGCTCTTGAGGACCTGCTCCTGGGTTTCAGATGCC
AGCCTCACATGTACTCTGAATGGCCTGAGAAATCCTGAGGGAGCTGTCTTCACCTGGGAGCCCTCCA
CTGGGAAGGATGCAGTGCAGAAGAAAGCTGTGCAGAAATTCCTGCGGCTGCTACAGTGTGTCCAGCGT
CCTGCCTGGCTGTGCTGAGCGCTGGAACAGTGGCGCATCATTCAAGTGCACAGTTACCCATCCTGAG
TCTGACACCTTAAGTGGCACAATTGCCAAAATCACAGTGAACACCTTCCCACCCCAGGTCCACCTGC
TACCGCCGCCGTGCGAGGAGCTGGCCCTGAATGAGCTCGTGTCCCTGACATGCCTGGTGCAGCTTT
CAACCCTAAAGAAGTGCTGGTGCATGGCTGCATGGAAATGAGGAGCTGTCCCCAGAAAGCTACCTA
GTGTTTGAGCCCCCTAAAGGAGCCAGGCGAGGGAGCCACCACCTACCTGGTGACAAGCGTGTTGCGTG
TATCAGCTGAACTCTGAAACAGGGTGACCAGTACTCCTGCATGGTGGGGCCACGAGGCCTTGCCCAT
GAACTTCACCCAGAAGACCATCGACCGTCTGTGCGGTAAAAATTCAGAGGGCCAGATCCCGCTGGGT
GGAGACCTGGCCCCACAGATGCTGCGAGAACTTCAGGAGACTAATGCGGCGCTGCAAGACGTGAGAG
AGCTGTTGCGACAGCAGGTCAAGGAGATCACCTTCTGAAGAATACGGTGATGGAATGTGATGCTTG
CGGAATGCAGCCCGCACGCACTCCAGGCTGA

＞配列番号 3 RS__LV001 軽鎖可変領域アミノ酸配列

MKLPVRLLLVLMFWIPGFSSDVLMTQSPASLSVSLGDRATISCRASQSIVHTNGNTYLEW
YLQKPGQSPKLLIYKVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFILKISRVEAEDLGVYYCFQGS
HVPPTFGGGTKLEVK*

＞配列番号 4 : リンカー (KK)

SSADDAKKDAKKDDAKKDDAKKDDAS

＞配列番号 5 : リンカー (AA)

SSADDAAADAAAADDAAADDAAADAS

＞配列番号 6 : mouse IgVシグナル配列

MKCSWIIFFLMAVVTGVNS

＞配列番号 7 : notail欠失配列

PTNVSVSVIMSEGDGICY

＞配列番号 8 : CH0 W27 HAACOMP IgA H鎖 アミノ酸配列（シグナル配列無し）

EVQLQQSGSELVKSGASVKLSCTVSGFNFTDYYIHVWRQRTEQGLEWIGRIDPENDETTYAPKFQ GK
ATMTADTSSNTAYLQLTSLTSED TAVYYCARSTVLDYWGHGTTLTVSSESARNPTIYPLTLPRALSS
DPV IIGCLIHDYFPSGTMNVTWGKSGKDITTVNFPPALASGGGYTMSSQLTLPAVECPEGESVKCSV
QHDSNAVQELDVKCSGPPPPCPPCPPSCHPSLSLQRPAL EDLLGSDASLTCTLNGLRNPEGAVFTW
EPSTGKDAVQKKAVQNSCGCYSVSSVLPGCAERWNSGASF KCTVTHPESDTLTGTIAKITVNTFPPQ
VHLLPPPSEELALNELVSLTCLVRAFNPKEVLVRWLHGNEELSPESYLVFEPLKEPEGEGATTYLVTS
VLRVSAELWKQGDQYSCMVGHEALPMNFTQKTIDRLSGKPTNVSVSVIMSEGDGICYSSADDAADA
AAADDAADDAADASNSEGQIPLGGDLAPQMLRELQETNAALQDVRELLRQQVKEITFLKNTVMEC
DACGMQPARTPG*

＞配列番号 9 : CH0 W27 HKKCOMP IgA H鎖 アミノ酸配列（シグナル配列無し）

EVQLQQSGSELVKSGASVKLSCTVSGFNFTDYYIHVWRQRTEQGLEWIGRIDPENDETTYAPKFQ GK
ATMTADTSSNTAYLQLTSLTSED TAVYYCARSTVLDYWGHGTTLTVSSESARNPTIYPLTLPRALSS
DPV IIGCLIHDYFPSGTMNVTWGKSGKDITTVNFPPALASGGGYTMSSQLTLPAVECPEGESVKCSV
QHDSNAVQELDVKCSGPPPPCPPCPPSCHPSLSLQRPAL EDLLGSDASLTCTLNGLRNPEGAVFTW
EPSTGKDAVQKKAVQNSCGCYSVSSVLPGCAERWNSGASF KCTVTHPESDTLTGTIAKITVNTFPPQ
VHLLPPPSEELALNELVSLTCLVRAFNPKEVLVRWLHGNEELSPESYLVFEPLKEPEGEGATTYLVTS
VLRVSAELWKQGDQYSCMVGHEALPMNFTQKTIDRLSGKPTNVSVSVIMSEGDGICYSSADDAKDA
AAADDKKADDAKADASNSEGQIPLGGDLAPQMLRELQETNAALQDVRELLRQQVKEITFLKNTVMEC
DACGMQPARTPG*

＞配列番号 10 : CH0 W27HdirectCOMP IgA H アミノ酸配列（シグナル配列無し）

EVQLQQSGSELVKSGASVKLSCTVSGFNFTDYYIHVWRQRTEQGLEWIGRIDPENDETTYAPKFQ GK
ATMTADTSSNTAYLQLTSLTSED TAVYYCARSTVLDYWGHGTTLTVSSESARNPTIYPLTLPRALSS
DPV IIGCLIHDYFPSGTMNVTWGKSGKDITTVNFPPALASGGGYTMSSQLTLPAVECPEGESVKCSV
QHDSNAVQELDVKCSGPPPPCPPCPPSCHPSLSLQRPAL EDLLGSDASLTCTLNGLRNPEGAVFTW
EPSTGKDAVQKKAVQNSCGCYSVSSVLPGCAERWNSGASF KCTVTHPESDTLTGTIAKITVNTFPPQ
VHLLPPPSEELALNELVSLTCLVRAFNPKEVLVRWLHGNEELSPESYLVFEPLKEPEGEGATTYLVTS
VLRVSAELWKQGDQYSCMVGHEALPMNFTQKTIDRLSGKPTNVSVSVIMSEGDGICYNSEGQIPLGG
DLAPQMLRELQETNAALQDVRELLRQQVKEITFLKNTVMECDACGMQPARTPG*

＞配列番号 11 : CH0 W27HAACOMPの塩基配列(N末端シグナル配列を含む)

ATGAAATGCAGCTGGATCATCTTCTTCCTGATGGCAGTGGTTACAGGGGTCAATTCAGAGGTTTCAGC
TGCAGCAGTCTGGGTGAGAGCTTGTGAAGTCTGGGGCCTCAGTCAAGTTGTCCTGCACAGTTTCTGG
GTTCAACTTTACAGACTACTATATACACTGGGTGAGGCAGAGGACTGAACAGGGCCTGGAATGGATT
GGAAGGATTGATCCTGAGAATGATGAACTACATATGCCCCGAAATTCAGGGCAAGGCCACTATGA
CAGCAGACACATCTTCCAACACAGCCTACCTGCAGCTCACCAGCCTGACATCTGAAGACACTGCCGT
CTATTACTGTGCTAGATCTACGGTCCTTGACTACTGGGGCCACGGCACCACTCTCACAGTCTCCTCA
GAGTCTGCGAGAAATCCCACCATCTACCCACTGACACTCCCACGAGCTCTGTCAAGTGACCCAGTGA
TAATCGGCTGCCTGATTCACGATTACTTCCCTTCCGGCACGATGAATGTGACCTGGGGAAAGAGTGG
GAAGGATATAACCACCGTAAACTTCCACCTGCCCTGGCCTCTGGGGGAGGGTACACCATGAGCAGC
CAGTTGACCCTGCCAGCTGTCGAGTGCCCAGAAGGAGAATCCGTGAAATGTTCCGTGCAACATGACT
CTAACGCCGTCCAAGAATTGGATGTGAAGTGCTCTGGTCCTCCTCCTCCTTGTCTCCTTGTCTCTCC
TTCCTGCCATCCCAGCCTGTCACTGCAGCGGCCAGCTCTTGAGGACCTGCTCCTGGGTTTCAGATGCC
AGCCTCACATGTACTCTGAATGGCCTGAGAAATCCTGAGGGAGCTGTCTTCACCTGGGAGCCCTCCA
CTGGGAAGGATGCAGTGCAGAAGAAAGCTGTGCAGAATTCCTGCGGCTGCTACAGTGTGTCCAGCGT
CCTGCCCTGGCTGTGCTGAGCGCTGGAACAGTGGCGCATCATTCAAGTGACAGTTACCCATCCTGAG
TCTGACACCTTAAGTGGCACAATTGCCAAAATCACAGTGAACACCTTCCACCCCAGGTCCACCTGC
TACCGCCGCCGTGCGAGGAGCTGGCCCTGAATGAGCTCGTGTCCCTGACATGCCTGGTGCAGCTTT
CAACCCTAAAGAAGTGCTGGTGCGATGGCTGCATGGAAATGAGGAGCTGTCCCCAGAAAGCTACCTA
GTGTTTGAGCCCCCTAAAGGAGCCAGGCGAGGGAGCCACCACCTACCTGGTGACAAGCGTGTTCGCTG
TATCAGCTGAACTCTGGAAACAGGGTGACCAGTACTCCTGCATGGTGGGCCACGAGGCCTTGCCCAT
GAACTTCACCCAGAAGACCATCGACCGTCTGTTCGGGTAAACCCACCAATGTCAGCGTGTCTGTGATC
ATGTCAGAGGGAGATGGCATCTGCTACTCCTCCGCTGACGATGCCGCTGCTGATGCTGCCGCCGCCG
ATGATGCTGCTGCTGACGACGCCGCTGCTGACGCTTCCAACCTCCGAGGGCCAGATCCCGCTGGGTGG
AGACCTGGCCCCACAGATGCTGCGAGAACTTCAGGAGACTAATGCGGCGCTGCAAGACGTGAGAGAG
CTGTTGCGACAGCAGGTCAAGGAGATCACCTTCTGAAGAATACGGTGATGGAATGTGATGCTTGCG
GAATGCAGCCCGCACGCACTCCAGGCTGA

>配列番号 1 2 : CH0 W27HKKCOMPの塩基配列の塩基配列(N末端シグナル配列を含む)

ATGAAATGCAGCTGGATCATCTTCTTCTGATGGCAGTGGTTACAGGGGTCAATTCAGAGGTTTCAGC
TGCAGCAGTCTGGGTGAGAGCTTGTGAAGTCTGGGGCCTCAGTCAAGTTGTCCTGCACAGTTTCTGG
GTTCAACTTTACAGACTACTATATACACTGGGTGAGGCAGAGGACTGAACAGGGCCTGGAATGGATT
GGAAGGATTGATCCTGAGAATGATGAAACTACATATGCCCCGAAATTCAGGGCAAGGCCACTATGA
CAGCAGACACATCTTCCAACACAGCCTACCTGCAGCTCACCAGCCTGACATCTGAAGACACTGCCGT
CTATTACTGTGCTAGATCTACGGTCCTTGACTACTGGGGCCACGGCACCCTCTCACAGTCTCCTCA
GAGTCTGCGAGAAATCCCACCATCTACCCACTGACACTCCCACGAGCTCTGTCAAGTGACCCAGTGA
TAATCGGCTGCCTGATTACGATTACTTCCCTTCCGGCACGATGAATGTGACCTGGGGAAAGAGTGG
GAAGGATATAACCACCGTAAACTTCCCACCTGCCCTGGCCTCTGGGGGAGGGTACACCATGAGCAGC
CAGTTGACCCTGCCAGCTGTGAGTGCCCGAGAAGGAGAATCCGTGAAATGTTCCGTGCAACATGACT
CTAACGCCGTCCAAGAATTGGATGTGAAGTGCTCTGGTCCCTCCTCCTCCTTGTCTCCTTGTCTCCTCC
TTCCTGCCATCCCAGCCTGTCACTGCAGCGGCCAGCTCTTGAGGACCTGCTCCTGGGTTTCAGATGCC
AGCCTCACATGTACTCTGAATGGCCTGAGAAATCCTGAGGGAGCTGTCTTACCTGGGAGCCCTCCA
CTGGGAAGGATGCAGTGCAGAAGAAAGCTGTGCAGAATTCCTGCGGCTGCTACAGTGTGTCCAGCGT
CCTGCCTGGCTGTGCTGAGCGCTGGAACAGTGGCGCATCATTCAGTGCACAGTTACCCATCCTGAG
TCTGACACCTTAACTGGCACAATTGCCAAAATCACAGTGAACACCTTCCCACCCAGGTCCACCTGC
TACCGCCGCCGTGCGAGGAGCTGGCCCTGAATGAGCTCGTGTCCCTGACATGCCTGGTGCAGAGCTTT
CAACCTTAAAGAAGTGCTGGTGCGATGGCTGCATGGAAATGAGGAGCTGTCCCCAGAAAGCTACCTA
GTGTTTGAGCCCCCTAAAGGAGCCAGGCGAGGGAGCCACCACCTACCTGGTGACAAGCGTGTTGCGTG
TATCAGCTGAACTCTGGAACAGGGTGACCAGTACTCCTGCATGGTGGGCCACGAGGCCTTGCCCAT
GAACTTCACCCAGAAGACCATCGACCGTCTGTGCGGTAAACCCACCAATGTCAGCGTGTCTGTGATC
ATGTCAGAGGGAGATGGCATCTGCTACAGCTCGGCAGACGATGCCAAGAAAGATGCAGCCAAGAAAG
ACGATGCCAAGAAAGACGACGCCAAGAAAGACGCTTCCAATTCAGAGGGCCAGATCCCGCTGGGTGG
AGACCTGGCCCCACAGATGCTGCGAGAACTTCAGGAGACTAATGCGGCGCTGCAAGACGTGAGAGAG
CTGTTGCGACAGCAGGTCAAGGAGATCACCTTCCCTGAAGAATACGGTGATGGAATGTGATGCTTGCG
GAATGCAGCCCGCACGCACTCCAGGCTGA

>配列番号 1 3 : CH0 W27HdirectCOMPの塩基配列の塩基配列(N末端シグナル
配列を含む)

ATGAAATGCAGCTGGATCATCTTCTTCTGATGGCAGTGGTTACAGGGGTCAATTCAGAGGTTTCAGC
TGCAGCAGTCTGGGTGAGAGCTTGTGAAGTCTGGGGCCTCAGTCAAGTTGTCTGCACAGTTTCTGG
GTTCAACTTTACAGACTACTATATACACTGGGTGAGGCAGAGGACTGAACAGGGCCTGGAATGGATT
GGAAGGATTGATCCTGAGAATGATGAAACTACATATGCCCCGAAATTCAGGGCAAGGCCACTATGA
CAGCAGACACATCTTCCAACACAGCCTACCTGCAGCTCACCAGCCTGACATCTGAAGACACTGCCGT
CTATTACTGTGCTAGATCTACGGTCCTTGACTACTGGGGCCACGGCACCCTCTCACAGTCTCCTCA
GAGTCTGCGAGAAATCCCACCATCTACCCACTGACACTCCCACGAGCTCTGTCAAGTGACCCAGTGA
TAATCGGCTGCCTGATTACGATTACTTCCCTTCCGGCACGATGAATGTGACCTGGGGAAAGAGTGG
GAAGGATATAACCACCGTAACTTCCCACCTGCCCTGGCCTCTGGGGGAGGGTACACCATGAGCAGC
CAGTTGACCCTGCCAGCTGTCGAGTGCCGAGAAGGAGAATCCGTGAAATGTTCCGTGCAACATGACT
CTAACGCCGTCCAAGAATTGGATGTGAAGTGCTCTGGTCCTCCTCCTCCTTGTCTCCTTGTCTCCTCC
TTCCTGCCATCCCAGCCTGTCACTGCAGCGGCCAGCTCTTGAGGACCTGCTCCTGGGTTTCAGATGCC
AGCCTCACATGTACTCTGAATGGCCTGAGAAATCCTGAGGGAGCTGTCTTACCTGGGAGCCCTCCA
CTGGGAAGGATGCAGTGCAGAAGAAAGCTGTGCAGAATTCCTGCGGCTGCTACAGTGTGTCCAGCGT
CCTGCCTGGCTGTGCTGAGCGCTGGAACAGTGGCGCATCATTCAAGTGCACAGTTACCCATCCTGAG
TCTGACACCTTAACTGGCACAATTGCCAAAATCACAGTGAACACCTTCCCACCCCAGGTCCACCTGC
TACCGCCGCCGTGCGAGGAGCTGGCCCTGAATGAGCTCGTGTCCCTGACATGCCTGGTGCGAGCTTT
CAACCCTAAAGAAGTGCTGGTGCGATGGCTGCATGGAAATGAGGAGCTGTCCCCAGAAAGCTACCTA
GTGTTTGAGCCCCTAAAGGAGCCAGGCGAGGGAGCCACCACCTACCTGGTGACAAGCGTGTTGCGTG
TATCAGCTGAACTCTGGAAACAGGGTGACCAGTACTCCTGCATGGTGGGCCACGAGGCCCTTGCCCAT
GAACTTCACCCAGAAGACCATCGACCGTCTGTGCGGTAAACCCACCAATGTCAGCGTGTCTGTGATC
ATGTCAGAGGGAGATGGCATCTGCTACAATTCAGAGGGCCAGATCCCCTGGGTGGAGACCTGGCCC
CACAGATGCTGCGAGAACTTCAGGAGACTAATGCGGCGCTGCAAGACGTGAGAGAGCTGTTGCGACA
GCAGGTCAAGGAGATCACCTTCCTGAAGAATACGGTGATGGAATGTGATGCTTGCGGAATGCAGCCC
GCACGCACTCCAGGCTGA

＞配列番号 14 : CH0 W27HnotailCOMPの塩基配列の塩基配列(N末端シグナル
配列を含む)

ATGAAATGCAGCTGGATCATCTTCTTCCTGATGGCAGTGGTTACAGGGGTCAATTCAGAGGTTTCAGC
TGCAGCAGTCTGGGTTCAGAGCTTGTGAAGTCTGGGGCCTCAGTCAAGTTGTCCTGCACAGTTTCTGG
GTTCAACTTTACAGACTACTATATACACTGGGTGAGGCAGAGGACTGAACAGGGCCTGGAATGGATT
GGAAGGATTGATCCTGAGAATGATGAAACTACATATGCCCCGAAATTCAGGGCAAGGCCACTATGA
CAGCAGACACATCTTCCAACACAGCCTACCTGCAGCTCACCAGCCTGACATCTGAAGACACTGCCGT
CTATTACTGTGCTAGATCTACGGTCCTTGACTACTGGGGCCACGGCACCCTCTCACAGTCTCCTCA
GAGTCTGCGAGAAATCCCACCCTACCCACTGACACTCCCACGAGCTCTGTCAAGTGACCCAGTGA
TAATCGGCTGCCTGATTACGATTACTTCCCTTCCGGCACGATGAATGTGACCTGGGGAAAGAGTGG
GAAGGATATAACCACCGTAAACTTCCCACCTGCCCTGGCCTCTGGGGGAGGGTACACCATGAGCAGC
CAGTTGACCTGCCAGCTGTCGAGTGCCAGAAGGAGAATCCGTGAAATGTTCCGTGCAACATGACT
CTAACGCCGTCCAAGAATTGGATGTGAAGTGCTCTGGTCCTCCTCCTCCTTGTCCTCCTTGTCCTCC
TTCTTGCCATCCCAGCCTGTCACTGCAGCGGCCAGCTCTTGAGGACCTGCTCCTGGGTTTCAGATGCC
AGCCTCACATGTACTCTGAATGGCCTGAGAAATCCTGAGGGAGCTGTCTTCACCTGGGAGCCCTCCA
CTGGGAAGGATGCAGTGCAGAAGAAAGCTGTGCAGAATTCCTGCGGCTGCTACAGTGTGTCCAGCGT
CCTGCCTGGCTGTGCTGAGCGCTGGAACAGTGGCGCATCATTCAAGTGCACAGTTACCCATCCTGAG
TCTGACACCTTAAGTGGCACAATTGCCAAAATCACAGTGAACACCTTCCCACCCAGGTCCACCTGC
TACCGCCGCCGTCTGGAGGAGCTGGCCCTGAATGAGCTCGTGTCCCTGACATGCCTGGTGCGAGCTTT
CAACCTTAAAGAAGTGCTGGTGCGATGGCTGCATGGAAATGAGGAGCTGTCCCCAGAAAGCTACCTA
GTGTTTGAGCCCCCTAAAGGAGCCAGGCGAGGGAGCCACCACCTACCTGGTGACAAGCGTGTTGCGTG
TATCAGCTGAACTCTGGAAACAGGGTGACCAGTACTCCTGCATGGTGGGCCACGAGGCCTTGCCAT
GAACTTCACCCAGAAGACCATCGACCGTCTGTGCGGTAAAAATTCAGAGGGCCAGATCCCGCTGGGT
GGAGACCTGGCCCCACAGATGCTGCGAGAATTCAGGAGACTAATGCGGCGCTGCAAGACGTGAGAG
AGCTGTTGCGACAGCAGGTCAAGGAGATCACCTTCCTGAAGAATACGGTGATGGAATGTGATGCTTG
CGGAATGCAGCCCGCACGCACTCCAGGCTGA

請求の範囲

- [請求項1] 少なくとも1つの重鎖のC末端多量体形成能促進領域に欠損を有する免疫グロブリン改変体を少なくとも1つ含む、2つ以上の免疫グロブリンを接触させる工程； および
- 前記2つ以上の免疫グロブリンを結合させる工程
- を含む、免疫グロブリン多量体を製造する方法。
- [請求項2] 前記欠損が、多量体形成能促進領域における1つ以上のアミノ酸の欠失である、請求項1に記載の方法。
- [請求項3] C末端多量体形成能促進領域に欠損を有する免疫グロブリンのC末端に、多量体化を促進する異種アミノ酸配列が付加されている、請求項1に記載の方法。
- [請求項4] 前記複数の免疫グロブリン分子のそれぞれが1 g Aまたは1 g Mである、請求項1に記載の方法。
- [請求項5] 請求項1に記載の方法で製造された免疫グロブリン多量体。
- [請求項6] 2以上の免疫グロブリンを含む免疫グロブリン多量体であって、前記2以上の免疫グロブリンを構成する免疫グロブリンの少なくとも1つの免疫グロブリンが、少なくとも1つの重鎖のC末端多量体形成能促進領域に欠損を有する免疫グロブリン改変体である、免疫グロブリン多量体。
- [請求項7] 細菌増殖抑制作用を有する、請求項5または6に記載の免疫グロブリン多量体。
- [請求項8] 細菌凝集作用を有する、請求項5または6に記載の免疫グロブリン多量体。
- [請求項9] C末端多量体形成能促進領域に欠損を有し、免疫グロブリン多量体形成能を有する免疫グロブリン改変体。
- [請求項10] 請求項5または6に記載の免疫グロブリン多量体または請求項9に記載の免疫グロブリン改変体を含む食品組成物、飼料組成物、医薬品組成物または試薬組成物。

[請求項11] 請求項 9 に記載の免疫グロブリン改変体をコードする核酸配列を含む核酸。

[請求項12] 請求項 1 1 に記載の核酸を含む細胞。

[図1]

> CHO W27HAACOMPのH鎖アミノ酸配列(シグナル配列なし)

EVQLQQSGSELVKSGASVKLSCTVSGFNFTDYYIHWVRQRTEQGLEWIGRIDPE
NDETTYAPKFQGKATMTADTSSNTAYLQLTSLTSEDYAVYYCARSTVLDYWGHG
TTLTVSSESARNPTIYPLTLPRALSSDPVIIIGCLIHDFPSGTMNVTWGKSGKD
ITTVNFPPALASGGGYTMSSQLTLPAVECPEGESVKCSVQHDSNAVQELDVKCS
GPPPPCPPCPPSCHPSLSLQRPALDLLLLGSDASLTCTLNGLRNPEGAVFTWEP
STGKDAVQKKAVQNSCGCYSSVSVLPGCAERWNSGASFKCTVTHPESDTLTGTI
AKITVNTFPPQVHLLPPPSEELALNELVSLTCLVRAFPNPKEVLVRLHGNELLS
PESYLVFEPLKEPGEGETTYLVTSVLRVSAELWKQGDQYSCMVGHEALPMNFTQ
KTIDRLSGKPTNVSVSVIMSEGDGICYSSADDAADAAAADDAAAADDAADAS
SEGOIPLGGDLAPOMLRELQETNAALQDVRELLROOVKEITFLKNTVMECDACG
MQPARTPG*

W27 IgA H
(シグナル配列を含まない)
[459アミノ酸]

Linker (AA) [26アミノ酸]

COMPドメイン [63アミノ酸]

[図2]

> CHO W27HKKCOMPのH鎖アミノ酸配列(シグナル配列なし)

EVQLQQSGSELVKSGASVKLSCTVSGFNFTDYYIHWVRQRTEQGLEWIGRIDPE
NDETTYAPKFQGKATMTADTSSNTAYLQLTSLTSEDYAVYYCARSTVLDYWGHG
TTLTVSSESARNPTIYPLTLPRALSSDPVIIIGCLIHDFPSGTMNVTWGKSGKD
ITTVNFPPALASGGGYTMSSQLTLPAVECPEGESVKCSVQHDSNAVQELDVKCS
GPPPPCPPCPPSCHPSLSLQRPALDLLLLGSDASLTCTLNGLRNPEGAVFTWEP
STGKDAVQKKAVQNSCGCYSSVSVLPGCAERWNSGASFKCTVTHPESDTLTGTI
AKITVNTFPPQVHLLPPPSEELALNELVSLTCLVRAFPNPKEVLVRLHGNELLS
PESYLVFEPLKEPGEGETTYLVTSVLRVSAELWKQGDQYSCMVGHEALPMNFTQ
KTIDRLSGKPTNVSVSVIMSEGDGICYSSADDAKKDAAAADKKADDAAKDDAS
SEGOIPLGGDLAPOMLRELQETNAALQDVRELLROOVKEITFLKNTVMECDACG
MQPARTPG*

W27 IgA H
(シグナル配列を含まない)
[459アミノ酸]

Linker (KK) [26アミノ酸]

COMPドメイン [63アミノ酸]

[図3]

> CHO W27HdirectCOMPのH鎖アミノ酸配列(シグナル配列なし)

EVQLQQSGSELVKSGASVKLSCTVSGFNFTDYYIHWVRQRTEQGLEWIGRIDPE
NDETTYAPKFQGKATMTADTSSNTAYLQLTSLTSEDYAVYYCARSTVLDYWGHG
TTLTVSSESARNPTIYPLTLPRALSSDPVIIIGCLIHDFPSGTMNVTWGKSGKD
ITTVNFPPALASGGGYTMSSQLTLPAVECPEGESVKCSVQHDSNAVQELDVKCS
GPPPPCPPCPPSCHPSLSLQRPALDLLLLGSDASLTCTLNGLRNPEGAVFTWEP
STGKDAVQKKAVQNSCGCYSSVSVLPGCAERWNSGASFKCTVTHPESDTLTGTI
AKITVNTFPPQVHLLPPPSEELALNELVSLTCLVRAFPNPKEVLVRLHGNELLS
PESYLVFEPLKEPGEGETTYLVTSVLRVSAELWKQGDQYSCMVGHEALPMNFTQ
KTIDRLSGKPTNVSVSVIMSEGDGICYNSEGOIPLGGDLAPOMLRELQETNAAL
QDVRELLROOVKEITFLKNTVMECDACGMQPARTPG*

W27 IgA H
(シグナル配列を含まない)
[459アミノ酸]

COMPドメイン [63アミノ酸]

[図4]

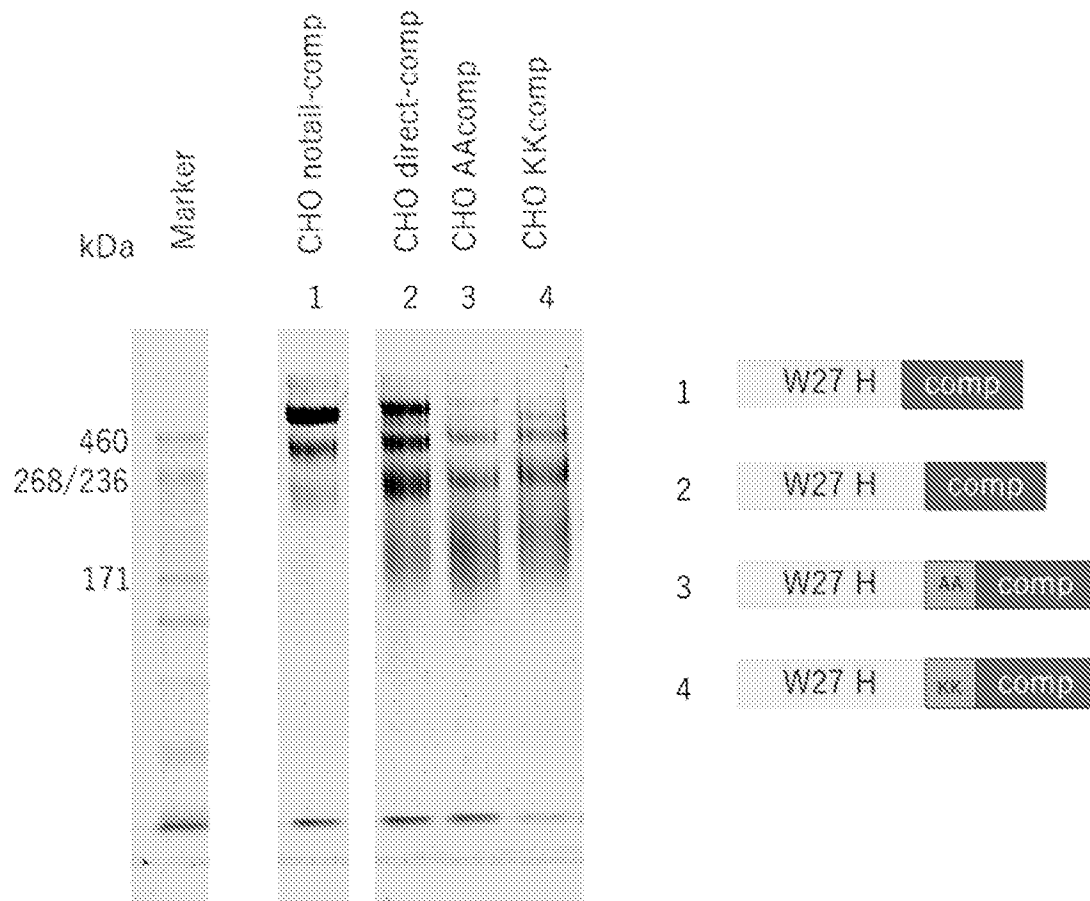
> CHO W27notailCOMPのH鎖アミノ酸配列(シグナル配列なし)

EVQLQQSGSELVKSGASVKLSCTVSGFNFTDYYIHWVRQRTEQGLEWIGRIDPE
NDETTYAPKFQGKATMTADTSSNTAYLQLTSLTSEDYAVYYCARSTVLDYWGHG
TTLTVSSESARNPTIYPLTLPRALSSDPVIIIGCLIHDFPSGTMNVTWGKSGKD
ITTVNFPPALASGGGYTMSSQLTLPAVECPEGESVKCSVQHDSNAVQELDVKCS
GPPPPCPPCPPSCHPSLSLQRPALDLLLLGSDASLTCTLNGLRNPEGAVFTWEP
STGKDAVQKKAVQNSCGCYSSVSVLPGCAERWNSGASFKCTVTHPESDTLTGTI
AKITVNTFPPQVHLLPPPSEELALNELVSLTCLVRAFPNPKEVLVRLHGNELLS
PESYLVFEPLKEPGEGETTYLVTSVLRVSAELWKQGDQYSCMVGHEALPMNFTQ
KTIDRLSGKNSEGOIPLGGDLAPOMLRELQETNAALQDVRELLROOVKEITFLK
NTVMECDACGMQPARTPG*

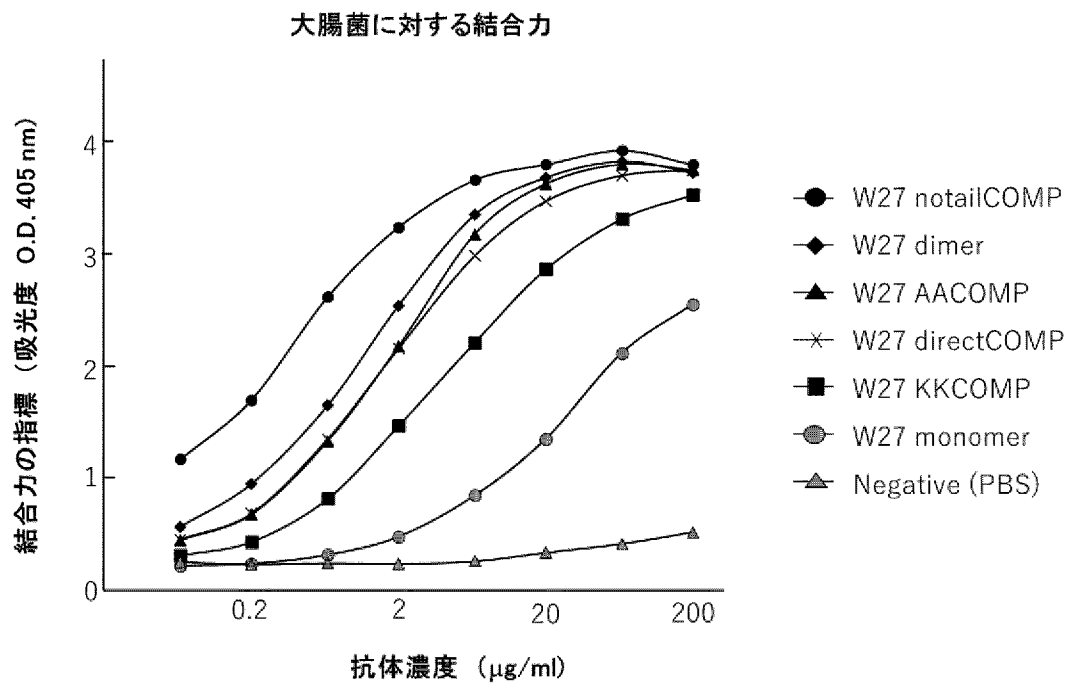
W27 IgA H
(シグナル配列を含まない)
[459アミノ酸]

COMPドメイン [63アミノ酸]

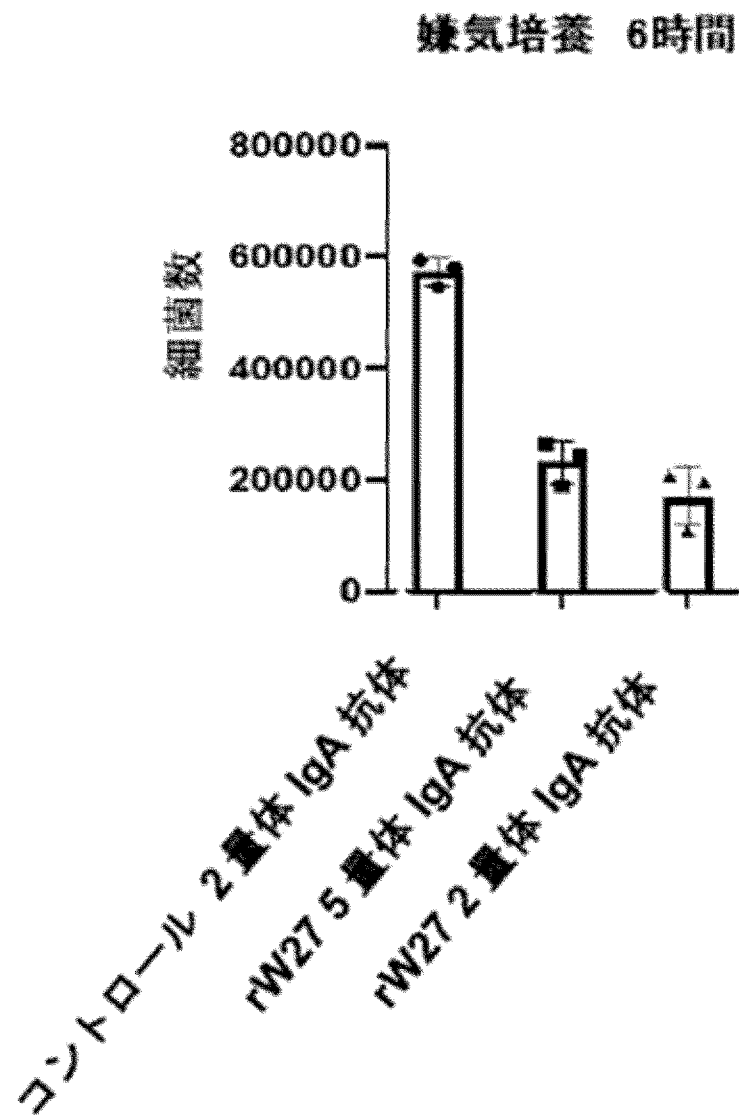
[図5]



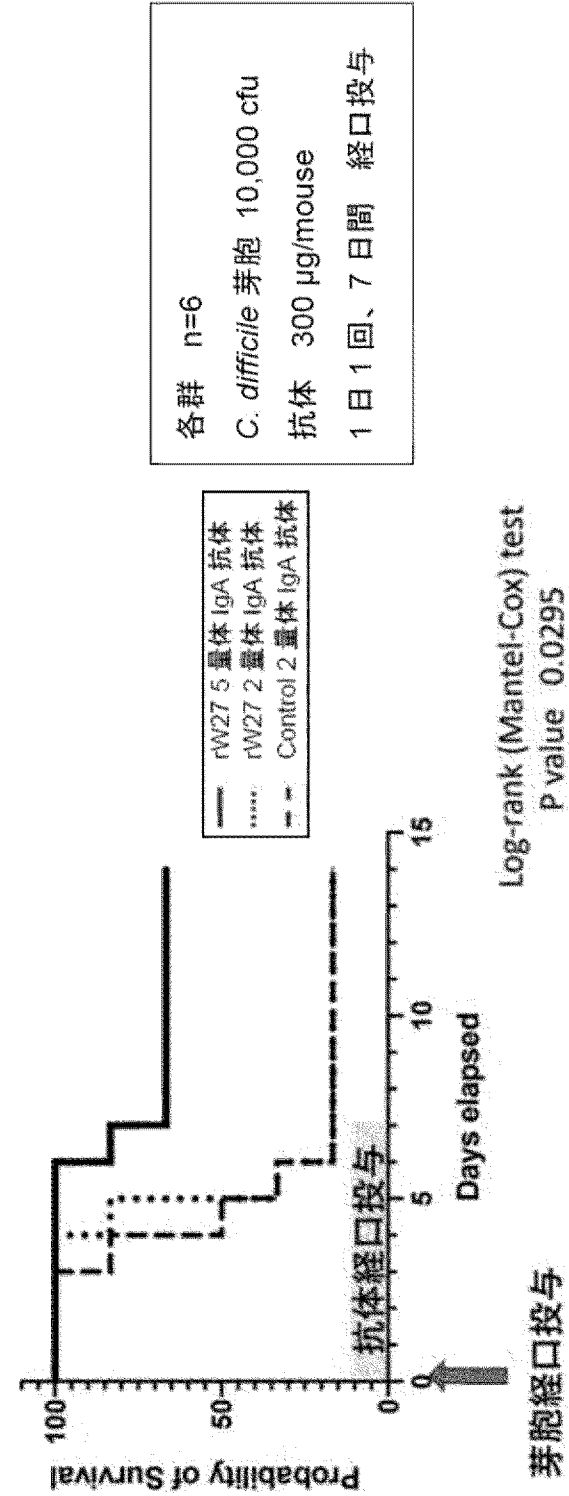
[図6]



[図7]



[図8]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2024/008128

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C07K 16/46(2006.01)i; **A23K 20/147**(2016.01)i; **A23L 33/18**(2016.01)i; **A61K 39/395**(2006.01)i; **A61P 31/04**(2006.01)i; **A61P 37/04**(2006.01)i; **C12N 1/15**(2006.01)i; **C12N 1/19**(2006.01)i; **C12N 1/21**(2006.01)i; **C12N 5/10**(2006.01)i; **C12N 15/13**(2006.01)i; **C12N 15/62**(2006.01)i; **C12P 21/08**(2006.01)i
FI: C07K16/46; C12N1/15; C12N1/19; C12N1/21; C12N5/10; A23L33/18; C12P21/08; C12N15/62 Z; A61K39/395 Y; A61P31/04; A61P37/04; A23K20/147; C12N15/13 ZNA

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

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

C07K16/46; A23K20/147; A23L33/18; A61K39/395; A61P31/04; A61P37/04; C12N1/15; C12N1/19; C12N1/21; C12N5/10; C12N15/13; C12N15/62; C12P21/08

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

Published examined utility model applications of Japan 1922-1996
Published unexamined utility model applications of Japan 1971-2024
Registered utility model specifications of Japan 1996-2024
Published registered utility model applications of Japan 1994-2024

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

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII); CAlus/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2004/046190 A2 (UNIVERSITY OF WARWICK) 03 June 2024 (2024-06-03) examples	1-6, 9-12
Y	examples	1-12
Y	WO 2023/277142 A1 (THE UNIVERSITY OF TOKYO) 05 January 2023 (2023-01-05) claims, examples	1-12
Y	JP 2016-520055 A (F. HOFFMANN-LA ROCHE AG) 11 July 2016 (2016-07-11) paragraph [0011]	1-12
A	WO 2022/115963 A1 (ZYMEWORKS INC.) 09 June 2022 (2022-06-09) claims, examples	1-12



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

“A” document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
“D” document cited by the applicant in the international application
“E” earlier application or patent but published on or after the international filing date
“L” document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
“O” document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
“P” document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

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

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

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

“&” document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

08 May 2024

Date of mailing of the international search report

21 May 2024

Name and mailing address of the ISA/JP

Japan Patent Office (ISA/JP)
3-4-3 Kasumigaseki, Chiyoda-ku, Tokyo 100-8915
Japan

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2024/008128

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
P, X	WO 2024/038839 A1 (THE UNIVERSITY OF TOKYO) 22 February 2024 (2024-02-22) claims, paragraph [0038]	1-12

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2024/008128

Box No. I Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.c of the first sheet)

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:
 - a. ☒ forming part of the international application as filed.
 - b. ☐ furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search (Rule 13ter.1(a)),
☐ accompanied by a statement to the effect that the sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed.
2. ☐ With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, this report has been established to the extent that a meaningful search could be carried out without a WIPO Standard ST.26 compliant sequence listing.
3. Additional comments:

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/JP2024/008128

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
WO	2004/046190	A2	03 June 2024	US	2006/0276637	A1	
				examples			
WO	2023/277142	A1	05 January 2023	CA	3224497	A1	
				claims, examples			
JP	2016-520055	A	11 July 2016	WO	2014/180754	A1	
				p. 3			
WO	2022/115963	A1	09 June 2022	US	2024/0034809	A1	
				claims, examples			
WO	2024/038839	A1	22 February 2024	(Family: none)			

A. 発明の属する分野の分類（国際特許分類（IPC））

C07K 16/46(2006.01)i; A23K 20/147(2016.01)i; A23L 33/18(2016.01)i; A61K 39/395(2006.01)i; A61P 31/04(2006.01)i; A61P 37/04(2006.01)i; C12N 1/15(2006.01)i; C12N 1/19(2006.01)i; C12N 1/21(2006.01)i; C12N 5/10(2006.01)i; C12N 15/13(2006.01)i; C12N 15/62(2006.01)i; C12P 21/08(2006.01)i
FI: C07K16/46; C12N1/15; C12N1/19; C12N1/21; C12N5/10; A23L33/18; C12P21/08; C12N15/62 Z; A61K39/395 Y; A61P31/04; A61P37/04; A23K20/147; C12N15/13 ZNA

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料（国際特許分類（IPC））

C07K16/46; A23K20/147; A23L33/18; A61K39/395; A61P31/04; A61P37/04; C12N1/15; C12N1/19; C12N1/21; C12N5/10; C12N15/13; C12N15/62; C12P21/08

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報1922-1996年
日本国公開実用新案公報1971-2024年
日本国実用新案登録公報1996-2024年
日本国登録実用新案公報1994-2024年

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

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII); Cplus/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
X	WO 2004/046190 A2 (UNIVERSITY OF WARWICK) 03.06.2024 (2024 - 06 - 03) examples	1-6, 9-12
Y	examples	1-12
Y	WO 2023/277142 A1 (国立大学法人 東京大学) 05.01.2023 (2023 - 01 - 05) 特許請求の範囲、実施例	1-12
Y	JP 2016-520055 A (エフ・ホフマン・ラ ロシュ アーゲー) 11.07.2016 (2016 - 07 - 11) [0011]	1-12
A	WO 2022/115963 A1 (ZYMEWORKS INC.) 09.06.2022 (2022 - 06 - 09) Claims, Examples	1-12

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。

☒ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー
“A” 特に関連のある文献ではなく、一般的技术水準を示すもの
“D” 国際出願で出願人が先行技術文献として記載した文献
“E” 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
“L” 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献（理由を付す）
“O” 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
“P” 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願の日の後に公表された文献

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

国際調査を完了した日
08.05.2024

国際調査報告の発送日
21.05.2024

名称及びあて先
日本国特許庁(ISA/JP)
〒100-8915
日本国
東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

権限のある職員（特許庁審査官）

松原 寛子 4B 4154

電話番号 03-3581-1101 内線 3488

C. 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
P, X	W0 2024/038839 A1 (国立大学法人 東京大学) 22.02.2024 (2024 - 02 - 22) 特許請求の範囲、[0038]	1-12

第 I 欄 スクレオチド又はアミノ酸配列（第 1 ページの 1. c の続き）

1. この国際出願で開示されたスクレオチド又はアミノ酸配列に関して、以下の配列表に基づき国際調査を行った。

- a. ☒ 出願時における国際出願の一部を構成する配列表
- b. ☐ 国際出願日後に、国際調査のために提出された配列表（PCT規則13の3.1(a)）
☐ 配列表が出願時の国際出願の開示の範囲を超えるものではない旨の陳述書が添付されていた。

2. ☐ この国際出願で開示されたスクレオチド又はアミノ酸配列に関して、この国際調査報告は、WIPO標準ST.26に準拠する配列表なしで有意義な国際調査をすることができる限度において作成された。

3. 補足意見：

国際調査報告
パテントファミリーに関する情報

国際出願番号
PCT/JP2024/008128

引用文献			公表日	パテントファミリー文献			公表日
WO	2004/046190	A2	03.06.2024	US	2006/0276637	A1	
				examples			
WO	2023/277142	A1	05.01.2023	CA	3224497	A1	
				claims, examples			
JP	2016-520055	A	11.07.2016	WO	2014/180754	A1	
				p.3			
WO	2022/115963	A1	09.06.2022	US	2024/0034809	A1	
				Claims, Examples			
WO	2024/038839	A1	22.02.2024	(ファミリーなし)			