(19)日本国特許庁(JP)　(12)公表特許公報(A)　(11)特許出願公表番号
特表2019-502715
(P2019-502715A)
(43)公表日　平成31年1月31日(2019.1.31)

(51)Int.Cl.		F I			テーマコード（参考）
A61K 39/395	***(2006.01)***	A61K	39/395	D	4C084
A61K 45/00	***(2006.01)***	A61K	39/395	N	4C085
A61K 31/215	***(2006.01)***	A61K	45/00		4C086
A61K 31/351	***(2006.01)***	A61K	31/215		4C206
A61K 31/13	***(2006.01)***	A61K	31/351		4H045

審査請求 未請求　予備審査請求 未請求　（全 54 頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2018-536104 (P2018-536104)
(86)(22)出願日　平成29年1月12日 (2017.1.12)
(85)翻訳文提出日　平成30年7月24日 (2018.7.24)
(86)国際出願番号　PCT/US2017/013086
(87)国際公開番号　WO2017/123685
(87)国際公開日　平成29年7月20日 (2017.7.20)
(31)優先権主張番号　62/278,068
(32)優先日　平成28年1月13日 (2016.1.13)
(33)優先権主張国　米国 (US)

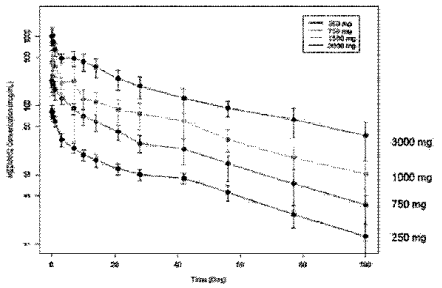
(71)出願人　504333972
メディミューン，エルエルシー
アメリカ合衆国　２０８７８　メリーランド州，ゲイサーズバーグ，ワン　メディミューン　ウェイ
(74)代理人　110002572
特許業務法人平木国際特許事務所
(72)発明者　カレウアード－レライ，ニコル
アメリカ合衆国　２０８７８　メリーランド州，ゲイサーズバーグ，ワン　メディミューン　ウェイ，メディミューン，エルエルシー

最終頁に続く

(54)【発明の名称】Ａ型インフルエンザを治療する方法

(57)【要約】
本明細書に提供されるのは、患者におけるＡ型インフルエンザウイルス感染を治療、低減又は予防するための方法、並びに患者におけるＡ型インフルエンザウイルス感染を治療、低減又は予防するための組成物及び製品である。
【選択図】図１

FIGURE 1



【特許請求の範囲】
【請求項１】
患者におけるＡ型インフルエンザウイルス感染を治療する方法であって、Ａ型インフルエンザウイルスの少なくとも１つのグループ１サブタイプ及び少なくとも１つのグループ２サブタイプのＡ型インフルエンザウイルスヘマグルチニンに結合する能力がある、少なくとも約２００ｍｇ及び最大約３５００ｍｇの抗Ａ型インフルエンザ抗体又はその断片を前記患者に投与するステップを含む、方法。
【請求項２】
患者におけるＡ型インフルエンザウイルス感染を低減する方法であって、Ａ型インフルエンザウイルスの少なくとも１つのグループ１サブタイプ及び少なくとも１つのグループ２サブタイプのＡ型インフルエンザウイルスヘマグルチニンに結合する能力がある、少なくとも約２００ｍｇ及び最大約３５００ｍｇの抗Ａ型インフルエンザ抗体又はその断片を前記患者に投与するステップを含む、方法。
【請求項３】
患者におけるＡ型インフルエンザウイルス感染を予防する方法であって、Ａ型インフルエンザウイルスの少なくとも１つのグループ１サブタイプ及び少なくとも１つのグループ２サブタイプのＡ型インフルエンザウイルスヘマグルチニンに結合する能力がある、少なくとも約２００ｍｇ及び最大約３５００ｍｇの抗Ａ型インフルエンザ抗体又はその断片を前記患者に投与するステップを含む、方法。
【請求項４】
前記抗Ａ型インフルエンザ抗体又はその断片が、少なくとも約２５０ｍｇ及び最大約３０００ｍｇの用量で投与される、請求項１～３のいずれか一項に記載の方法。
【請求項５】
前記抗Ａ型インフルエンザ抗体又はその断片が、Ａ型インフルエンザウイルスの少なくとも１つのグループ１サブタイプ及び少なくとも１つのグループ２サブタイプを中和する能力がある、請求項１～４のいずれか一項に記載の方法。
【請求項６】
投与するステップが非経口投与を含む、請求項１～５のいずれか一項に記載の方法。
【請求項７】
投与するステップが静脈内投与を含む、請求項１～６のいずれか一項に記載の方法。
【請求項８】
抗Ａ型インフルエンザ抗体又はその断片が単回用量として投与される、請求項７に記載の方法。
【請求項９】
前記患者がＡ型インフルエンザウイルスに曝露されるか、Ａ型インフルエンザウイルスに感染するか、Ａ型インフルエンザウイルス感染の症状を呈するか、又はその組み合わせが生じた後、抗Ａ型インフルエンザ抗体又はその断片が投与される、請求項１～８のいずれか一項に記載の方法。
【請求項１０】
前記患者が、Ａ型インフルエンザウイルスに曝露されるか、Ａ型インフルエンザウイルスに感染するか、Ａ型インフルエンザウイルス感染の症状を呈するか、又はその組み合わせの前、抗Ａ型インフルエンザ抗体又はその断片が投与される、請求項１～８のいずれか一項に記載の方法。
【請求項１１】
抗Ａ型インフルエンザ抗体又はその断片が、曝露、感染、症状発現、又はその組み合わせから３０日以内に対象に投与される、請求項１～８のいずれか一項に記載の方法。
【請求項１２】
抗Ａ型インフルエンザ抗体又はその断片が、Ｈ１、Ｈ２、Ｈ５、Ｈ６、Ｈ８、Ｈ９、Ｈ１１、Ｈ１２、Ｈ１３、Ｈ１６、Ｈ１７、Ｈ１８、及びそれらの変異体から選択される１つ以上のＡ型インフルエンザウイルスのグループ１サブタイプ；並びにＨ３、Ｈ４、Ｈ７

、Ｈ１０、Ｈ１４及びＨ１５及びそれらの変異体から選択される１つ以上のＡ型インフルエンザウイルスのグループ２サブタイプを中和する能力がある、請求項１～１１のいずれか一項に記載の方法。
【請求項１３】
抗Ａ型インフルエンザ抗体又はその断片が、配列番号３、配列番号４、及び配列番号５から選択されるアミノ酸配列に対して少なくとも７５％同一のアミノ酸配列を有する１つ以上の重鎖ＣＤＲ、並びに配列番号８、配列番号９及び配列番号１０に示されるアミノ酸配列から選択されるアミノ酸配列に対して少なくとも７５％同一のアミノ酸配列を有する１つ以上の軽鎖ＣＤＲを含む、請求項１～１２のいずれか一項に記載の方法。
【請求項１４】
抗Ａ型インフルエンザ抗体又はその断片が、配列番号３、配列番号４、及び配列番号５から選択されるアミノ酸配列を有する１つ以上の重鎖ＣＤＲ、並びに配列番号８、配列番号９及び配列番号１０から選択されるアミノ酸配列を有する１つ以上の軽鎖ＣＤＲを含む、請求項１～１３のいずれか一項に記載の方法。
【請求項１５】
抗Ａ型インフルエンザ抗体又はその断片が、配列番号２のアミノ酸配列に対して少なくとも７５％の同一性を有するアミノ酸配列を有するＶＨ、及び配列番号７のアミノ酸配列に対して少なくとも７５％の同一性を有するアミノ酸配列を有するＶＬを含む、請求項１～１４のいずれか一項に記載の方法。
【請求項１６】
抗Ａ型インフルエンザ抗体又はその断片が、配列番号２に示されるアミノ酸配列を有するＶＨ、及び配列番号７に示されるアミノ酸配列を有するＶＬを含む、請求項１～１５のいずれか一項に記載の方法。
【請求項１７】
抗Ａ型インフルエンザ抗体がＭＥＤＩ８８５２を含む、請求項１～１６のいずれか一項に記載の方法。
【請求項１８】
前記抗体又はその断片が、１つ以上の小分子抗ウイルス薬と組み合わせて投与される、請求項１～１７のいずれか一項に記載の方法。
【請求項１９】
前記小分子抗ウイルス薬が、オセルタミビル（ＴＡＭＩＦＬＵ（登録商標））、ザナミビル（ＲＥＬＥＮＺＡ（登録商標））、アマンタジン及びリマンタジンから選択される、請求項１８に記載の方法。
【請求項２０】
患者におけるＡ型インフルエンザウイルス感染を治療するための組成物であって、少なくとも約２００ｍｇ及び最大約３５００ｍｇの抗Ａ型インフルエンザ抗体又はその断片を患者に投与するために調合される、Ａ型インフルエンザウイルスの少なくとも１つのグループ１サブタイプ及び少なくとも１つのグループ２サブタイプのＡ型インフルエンザウイルスヘマグルチニンに結合する能力がある抗Ａ型インフルエンザ抗体又はその断片を含む、組成物。
【請求項２１】
患者におけるＡ型インフルエンザウイルス感染を低減するための組成物であって、少なくとも約２００ｍｇ及び最大約３５００ｍｇの抗Ａ型インフルエンザ抗体又はその断片を患者に投与するために調合される、Ａ型インフルエンザウイルスの少なくとも１つのグループ１サブタイプ及び少なくとも１つのグループ２サブタイプのＡ型インフルエンザウイルスヘマグルチニンに結合する能力がある抗Ａ型インフルエンザ抗体又はその断片を含む、組成物。
【請求項２２】
患者におけるＡ型インフルエンザウイルス感染を予防するための組成物であって、少なくとも約２００ｍｇ及び最大約３５００ｍｇの抗Ａ型インフルエンザ抗体又はその断片を

患者に投与するために調合される、Ａ型インフルエンザウイルスの少なくとも１つのグループ１サブタイプ及び少なくとも１つのグループ２サブタイプのＡ型インフルエンザウイルスへマグルチニンに結合する能力がある抗Ａ型インフルエンザ抗体又はその断片を含む、組成物。

【請求項２３】

抗Ａ型インフルエンザ抗体又はその断片が、Ｈ１、Ｈ２、Ｈ５、Ｈ６、Ｈ８、Ｈ９、Ｈ１１、Ｈ１２、Ｈ１３、Ｈ１６、Ｈ１７、Ｈ１８、及びそれらの変異体から選択される１つ以上のＡ型インフルエンザウイルスのグループ１サブタイプ；並びにＨ３、Ｈ４、Ｈ７、Ｈ１０、Ｈ１４及びＨ１５及びそれらの変異体から選択される１つ以上のＡ型インフルエンザウイルスのグループ２サブタイプを中和する能力がある、請求項２０～２２のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項２４】

抗Ａ型インフルエンザ抗体又はその断片が、配列番号３、配列番号４、及び配列番号５から選択されるアミノ酸配列に対して少なくとも７５％同一のアミノ酸配列を有する１つ以上の重鎖ＣＤＲ、並びに配列番号８、配列番号９及び配列番号１０に示されるアミノ酸配列から選択されるアミノ酸配列に対して少なくとも７５％同一のアミノ酸配列を有する１つ以上の軽鎖ＣＤＲを含む、請求項２０～２３のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項２５】

抗Ａ型インフルエンザ抗体又はその断片が、配列番号３、配列番号４、及び配列番号５から選択されるアミノ酸配列を有する１つ以上の重鎖ＣＤＲ、並びに配列番号８、配列番号９及び配列番号１０から選択されるアミノ酸配列を有する１つ以上の軽鎖ＣＤＲを含む、請求項２０～２４のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項２６】

抗Ａ型インフルエンザ抗体又はその断片が、配列番号２のアミノ酸配列に対して少なくとも７５％の同一性を有するアミノ酸配列を有するＶＨ、及び配列番号７のアミノ酸配列に対して少なくとも７５％の同一性を有するアミノ酸配列を有するＶＬを含む、請求項２０～２５のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項２７】

抗Ａ型インフルエンザ抗体又はその断片が、配列番号２に示されるアミノ酸配列を有するＶＨ、及び配列番号７に示されるアミノ酸配列を有するＶＬを含む、請求項２０～２６のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項２８】

抗Ａ型インフルエンザ抗Ａ型インフルエンザ抗体がＭＥＤＩ８８５２を含む、請求項２０～２７のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項２９】

薬学的に許容できる担体をさらに含む、請求項２０～２８のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項３０】

１つ以上の小分子抗ウイルス薬をさらに含む、請求項２０～２９のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項３１】

前記小分子抗ウイルス薬が、オセルタミビル（ＴＡＭＩＦＬＵ（登録商標））、ザナミビル（ＲＥＬＥＮＺＡ（登録商標））、アマンタジン及びリマンタジンから選択される、請求項３０に記載の組成物。

【請求項３２】

容器及び前記容器内部の組成物、並びに少なくとも約２００ｍｇ及び最大約３５００ｍｇの抗Ａ型インフルエンザ抗体又はその断片を患者に投与するための使用説明書を含む製品であって、前記組成物が、Ａ型インフルエンザウイルスの少なくとも１つのグループ１サブタイプ及び少なくとも１つのグループ２サブタイプのＡ型インフルエンザウイルスへマグルチニンに結合する能力がある抗Ａ型インフルエンザ抗体又はその断片を含む、製品

。
【請求項３３】
前記ラベル又は添付文書が、抗Ａ型インフルエンザ抗体又はその断片を少なくとも約２００ｍｇ及び最大約３５００ｍｇの用量で投与するための使用説明書を含む、請求項３２に記載の製品。
【請求項３４】
抗Ａ型インフルエンザ抗体又はその断片が、Ｈ１、Ｈ２、Ｈ５、Ｈ６、Ｈ８、Ｈ９、Ｈ１１、Ｈ１２、Ｈ１３、Ｈ１６、Ｈ１７、Ｈ１８、及びそれらの変異体から選択される１つ以上のＡ型インフルエンザウイルスのグループ１サブタイプ；並びにＨ３、Ｈ４、Ｈ７、Ｈ１０、Ｈ１４及びＨ１５及びそれらの変異体から選択される１つ以上のＡ型インフルエンザウイルスのグループ２サブタイプを中和する能力がある、請求項３２又は３３に記載の製品。
【請求項３５】
抗Ａ型インフルエンザ抗体又はその断片が、配列番号３、配列番号４、及び配列番号５から選択されるアミノ酸配列に対して少なくとも７５％同一のアミノ酸配列を有する１つ以上の重鎖ＣＤＲ、並びに配列番号８、配列番号９及び配列番号１０に示されるアミノ酸配列から選択されるアミノ酸配列に対して少なくとも７５％同一のアミノ酸配列を有する１つ以上の軽鎖ＣＤＲを含む、請求項３２～３４のいずれか一項に記載の製品。
【請求項３６】
抗Ａ型インフルエンザ抗体又はその断片が、配列番号３、配列番号４、及び配列番号５から選択されるアミノ酸配列を有する１つ以上の重鎖ＣＤＲ、並びに配列番号８、配列番号９及び配列番号１０から選択されるアミノ酸配列を有する１つ以上の軽鎖ＣＤＲを含む、請求項３２～３５のいずれか一項に記載の製品。
【請求項３７】
抗Ａ型インフルエンザ抗体又はその断片が、配列番号２のアミノ酸配列に対して少なくとも７５％の同一性を有するアミノ酸配列を有するＶＨ、及び配列番号７のアミノ酸配列に対して少なくとも７５％の同一性を有するアミノ酸配列を有するＶＬを含む、請求項３２～３６のいずれか一項に記載の製品。
【請求項３８】
抗Ａ型インフルエンザ抗体又はその断片が、配列番号２に示されるアミノ酸配列を有するＶＨ、及び配列番号７に示されるアミノ酸配列を有するＶＬを含む、請求項３２～３７のいずれか一項に記載の製品。
【請求項３９】
抗Ａ型インフルエンザ抗体がＭＥＤＩ８８５２を含む、請求項３２～３８のいずれか一項に記載の製品。
【請求項４０】
１つ以上の小分子抗ウイルス薬をさらに含む、請求項３２～３９のいずれか一項に記載の製品。
【請求項４１】
前記小分子抗ウイルス薬が、オセルタミビル（ＴＡＭＩＦＬＵ（登録商標））、ザナミビル（ＲＥＬＥＮＺＡ（登録商標））、アマンタジン及びリマンタジンから選択される、請求項４０に記載の製品。
【請求項４２】
前記組成物が、薬学的に許容できる担体をさらに含む、請求項３２～４１のいずれか一項に記載の製品。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
電子的に提出された配列表の参照
本願とともに提出される配列表の内容は、その全体が参照により本明細書中に援用され

る。本願は、２０１５年１月１２日に作成され、５．２１キロバイトのサイズを有するテキストファイル化したＦＬＵＡ２００Ｐ１＿ｓｅｑ＿ｌｉｓｔｉｎｇとして、本願とともに提出される配列表を参照により援用する。

【０００２】

発明の分野

本発明は、対象におけるＡ型インフルエンザウイルス感染を治療、低減又は予防するための方法、組成物及び製品に関する。

【背景技術】

【０００３】

インフルエンザウイルス（ｉｎｆｌｕｅｎｚａ ｖｉｒｕｓ）は、毎年のインフルエンザ流行病や偶発的な世界的大流行を引き起こし、世界規模で公衆衛生に多大な脅威をもたらしている。季節性インフルエンザ感染は、毎年、特に幼児、易感染性患者及び高齢者における２００，０００～５００，０００人の死亡に関連している。死亡率は、典型的には、パンデミックインフルエンザの大流行に伴い、季節を通じてさらに増加する。特に十分なサービスを受けていない集団においてインフルエンザ感染を予防し、治療するための強力な抗ウイルス薬のために多くの満たされていない医学的需要が残っている。

【０００４】

インフルエンザウイルス（ｉｎｆｌｕｅｎｚａ ｖｉｒｕｓ）には３つの型、すなわちＡ型、Ｂ型及びＣ型が存在する。Ａ型インフルエンザウイルスは、ヒト、ブタ、ニワトリ及びフェレットを含む、多種多様な鳥類及び哺乳類に感染し得る。Ａ型インフルエンザウイルスは、表面糖タンパク質のヘマグルチニン（ＨＡ）及びノイラミニダーゼ（ＮＡ）をコードする２つの遺伝子の抗原領域内の対立遺伝子バリエーションに基づくサブタイプに分類され得る。ＨＡは、受容体結合性の膜融合糖タンパク質であり、ウイルスの標的細胞への付着及び侵入を媒介し、またＨＡは、保護的液性免疫応答の主要な標的である。ＨＡタンパク質は、構造が三量体をなし、単一のポリペプチド前駆体ＨＡ０の３つのコピーを含み、タンパク質分解成熟時、球状頭部（ＨＡ１）及びストーク領域（ＨＡ２）を有するｐＨ依存性の準安定な中間体に切断される。膜遠位「球状頭部」は、ＨＡ１構造の大部分を構成し、ウイルス侵入におけるシアル酸結合ポケット及び主要な抗原ドメインを有する。ＨＡ２及び一部のＨＡ１残基から構築される膜近位「ストーク」構造は、融合機構を有し、後期エンドソームの低ｐＨ環境下で立体構造変化を受け、膜融合及び細胞への侵入を誘発する。Ａ型インフルエンザサブタイプ間での配列相同性の程度は、ＨＡ１内（サブタイプ間の相同性が３４％～５９％）ではＨＡ２領域内（相同性が５１％～８０％）と比べてより小さい。インフルエンザウイルス感染によって誘発される中和抗体は大抵、ウイルス受容体結合を阻止するように可変ＨＡ１の球状頭部に標的化され、また通常、株に特異的である。まれに、ＨＡの球状頭部を標的にする広範な交差反応性モノクローナル抗体が同定されている（Ｋｒａｕｓｅ ｅｔ ａｌ．（２０１１）Ｊ．Ｖｉｒｏｌ．８５；Ｗｈｉｔｔｌｅ ｅｔ ａｌ．，（２０１１）ＰＮＡＳ １０８；Ｅｋｉｅｒｔ ｅｔ ａｌ．，（２０１２）Ｎａｔｕｒｅ ４８９；Ｌｅｅ ｅｔ ａｌ．（２０１２）ＰＮＡＳ１０９）。それに対し、ストーク領域の構造は、比較的保存されており、ウイルス侵入におけるｐＨ誘発性融合ステップを阻止するようにＨＡストークに結合する、一握りの広域中和抗体が近年同定されている（Ｅｋｉｅｒｔ ｅｔ ａｌ．，（２００９）Ｓｃｉｅｎｃｅ ３２４；Ｓｕｉ ｅｔ ａｌ．，（２００９）Ｎａｔ．Ｓｔｒｕｃｔ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．１６；Ｗｒａｍｍｅｒｔ ｅｔ ａｌ．，（２０１１）Ｊ Ｅｘｐ Ｍｅｄ ２０８；Ｅｋｉｅｒｔ ｅｔ ａｌ．，（２０１１）Ｓｃｉｅｎｃｅ ３３３；Ｃｏｒｔｉ ｅｔ ａｌ．，（２０１０）Ｊ．Ｃｌｉｎ．Ｉｎｖｅｓｔ．１２０；Ｔｈｒｏｓｂｙ Ｍ．，（２００８）ＰＬｏＳ Ｏｎｅ ３）。これらのストーク反応性の中和抗体の大部分は、Ａ型インフルエンザグループ１ウイルスに特異的であるか又はグループ２ウイルスに特異的であるかのいずれかである。直近では、グループ１及び２ウイルスの双方に対して交差反応性を示す、ストークに結合する抗体が単離された（Ｃｏｒｔｉ ｅｔ ａｌ．，（２０１１）Ｓｃｉｅｎｃｅ ３３３（６０４４）８５０－８５６；Ｌｉ ｅｔ ａｌ．

，（２０１２）ＰＮＡＳ １０９：９０４７－９０５２及びＤｒｅｙｆｕｓ ｅｔ ａｌ．，（２０１２）Ｓｃｉｅｎｃｅ ３３７（６１００）：１３４３－１３４８；Ｎａｋａｍｕｒａ ｅｔ ａｌ．，（２０１３）Ｃｅｌｌ Ｈｏｓｔ ＆ Ｍｉｃｒｏｂｅ １４：９３－１０３）。

【０００５】

ワクチン及び小分子抗ウイルス治療薬における進歩にもかかわらず、罹患率及び死亡率におけるリスクが高い集団では、インフルエンザのより効果的な治療に対する医学的需要は満たされないままである。これらの患者では、インフルエンザ感染は、重度の合併症をもたらす可能性があり、ヘルスケアシステム全体に対する多大な負担の原因である。インフルエンザ治療における現行の標準治療は、治療へのアクセス遅延（ｌａｔｅ ｐｒｅｓｅｎｔａｔｉｏｎ ｔｏ ｃａｒｅ）、抵抗性についての可能性、及び制限された治療域（ｔｈｅｒａｐｅｕｔｉｃ ｗｉｎｄｏｗ）に起因した、年配者における有効性低下の可能性を含む、多くの制限を有する。

【０００６】

ＭＥＤＩ８８５２（例えば、配列番号１～１０により表示される）は、強力な広範に中和するＩｇＧ１κモノクローナル抗体であり、全部で１８のＡ型インフルエンザウイルスサブタイプからのウイルス中で共有される高度に保存されたヘマグルチニンストーク領域に結合し、且つＡ型インフルエンザサブタイプの季節型とパンデミック型の双方への適用範囲を示す。ＭＥＤＩ８８５２は、広範なウイルスパネル、例えば季節性Ｈ１Ｎ１及びＨ３Ｎ２ウイルス、並びにＨ２、Ｈ４、Ｈ５、Ｈ６、Ｈ７、及びＨ９などのパンデミック型を引き起こす可能性を有するＡ型インフルエンザサブタイプを強力に中和する。加えて、感染細胞がＦｃエフェクター機能（すなわち、抗体依存性細胞傷害性（ＡＤＣＣ）、抗体依存性細胞食作用（ＡＤＣＰ）、及び補体依存性細胞傷害性（ＣＤＣ））を介してＭＥＤＩ８８５２を用いて排除され得、またＭＥＤＩ８８５２が、ウイルス融合、ＨＡプロテアーゼ切断（成熟）、及び細胞対細胞伝播を阻害することにより、Ａ型インフルエンザウイルス感染を予防することが示されている。

【先行技術文献】

【非特許文献】

【０００７】

【非特許文献１】Ｋｒａｕｓｅ ｅｔ ａｌ．（２０１１）Ｊ．Ｖｉｒｏｌ．８５；Ｗｈｉｔｔｌｅ ｅｔ ａｌ．，（２０１１）ＰＮＡＳ １０８
【非特許文献２】Ｅｋｉｅｒｔ ｅｔ ａｌ．，（２０１２）Ｎａｔｕｒｅ ４８９
【非特許文献３】Ｌｅｅ ｅｔ ａｌ．（２０１２）ＰＮＡＳ１０９
【非特許文献４】Ｅｋｉｅｒｔ ｅｔ ａｌ．，（２００９）Ｓｃｉｅｎｃｅ ３２４
【非特許文献５】Ｓｕｉ ｅｔ ａｌ．，（２００９）Ｎａｔ．Ｓｔｒｕｃｔ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．１６
【非特許文献６】Ｗｒａｍｍｅｒｔ ｅｔ ａｌ．，（２０１１）Ｊ Ｅｘｐ Ｍｅｄ ２０８
【非特許文献７】Ｅｋｉｅｒｔ ｅｔ ａｌ．，（２０１１）Ｓｃｉｅｎｃｅ ３３３
【非特許文献８】Ｃｏｒｔｉ ｅｔ ａｌ．，（２０１０）Ｊ．Ｃｌｉｎ．Ｉｎｖｅｓｔ．１２０
【非特許文献９】Ｔｈｒｏｓｂｙ Ｍ．，（２００８）ＰＬｏＳ Ｏｎｅ ３
【非特許文献１０】Ｃｏｒｔｉ ｅｔ ａｌ．，（２０１１）Ｓｃｉｅｎｃｅ ３３３（６０４４）８５０－８５６
【非特許文献１１】Ｌｉ ｅｔ ａｌ．，（２０１２）ＰＮＡＳ １０９：９０４７－９０５２
【非特許文献１２】Ｄｒｅｙｆｕｓ ｅｔ ａｌ．，（２０１２）Ｓｃｉｅｎｃｅ ３３７（６１００）：１３４３－１３４８
【非特許文献１３】Ｎａｋａｍｕｒａ ｅｔ ａｌ．，（２０１３）Ｃｅｌｌ Ｈｏｓｔ ＆ Ｍｉｃｒｏｂｅ １４：９３－１０３

【発明の概要】
【発明が解決しようとする課題】
【０００８】
今日まで、ＭＥＤＩ８８５２の薬理学的試験は制限されている。薬理学的に関連した動物種モデルが薬物動態及び薬力学試験に用いられたが、これらのモデルの薬理は、ヒトにおけるＭＥＤＩ８８５２の薬理とは異なる。従って、ヒトへのＭＥＤＩ８８５２投与における開始用量を見積もるための方法についての必要性、及びヒトでのＡ型インフルエンザ感染の治療におけるＭＥＤＩ８８５２の有効であるが安全な用量についての必要性が残っている。
【課題を解決するための手段】
【０００９】
概要
本明細書に提供されるのは、患者におけるＡ型インフルエンザウイルス感染を治療、低減又は予防するための方法、組成物及び製品である。
【００１０】
一実施形態では、患者におけるＡ型インフルエンザウイルス感染を治療、低減又は予防する方法が提供される。別の実施形態では、本方法は、Ａ型インフルエンザウイルスの少なくとも１つのグループ１サブタイプ及び少なくとも１つのグループ２サブタイプのＡ型インフルエンザウイルスヘマグルチニンに結合する能力がある抗Ａ型インフルエンザ抗体又はその断片を少なくとも約２００ｍｇ及び最大約３，５００ｍｇで患者に投与するステップを含む。
【００１１】
一実施形態では、患者はヒトである。一実施形態では、抗Ａ型インフルエンザ抗体又はその断片は、非経口的に投与される。さらなる特定の実施形態では、抗Ａ型インフルエンザ抗体又はその断片は、静脈内に投与される。一実施形態では、抗Ａ型インフルエンザ抗体又はその断片は、少なくとも約１ｍｇ／分及び最大約５０ｍｇ／分、少なくとも約５ｍｇ／分及び最大約３０ｍｇ／分、又は少なくとも約１５ｍｇ／分及び最大約２５ｍｇ／分の速度で投与される。
【００１２】
一実施形態では、抗Ａ型インフルエンザ抗体又はその断片は、患者がＡ型インフルエンザウイルスに曝露されるか、Ａ型インフルエンザウイルスに感染するか、Ａ型インフルエンザウイルス感染の症状を呈するか、又はそれらの組み合わせが生じた後、投与される。別の実施形態では、抗Ａ型インフルエンザ抗体又はその断片は、患者がＡ型インフルエンザウイルスに曝露されるか、Ａ型インフルエンザウイルスに感染するか、又はＡ型インフルエンザウイルス感染の症状を呈する前、投与される。一実施形態では、患者は、Ａ型インフルエンザウイルスに対して血清陰性である。別の実施形態では、患者は、Ａ型インフルエンザウイルスに対して血清陽性である。別の実施形態では、患者の血清状態が未知である。一実施形態では、抗Ａ型インフルエンザ抗体又はその断片は、曝露、感染、症状発症、又はそれらの組み合わせから３０日以内に対象に投与される。
【００１３】
さらなる特定の実施形態では、抗Ａ型インフルエンザ抗体又はその断片は、配列番号３、配列番号４、及び配列番号５に示されるアミノ酸配列から選択されるアミノ酸配列と少なくとも７５％同一のアミノ酸配列を有する１つ以上の重鎖ＣＤＲを含む。別の実施形態では、抗Ａ型インフルエンザ抗体又はその断片は、配列番号８、配列番号９及び配列番号１０に示されるアミノ酸配列から選択されるアミノ酸配列に対して少なくとも７５％同一のアミノ酸配列を有する１つ以上の軽鎖ＣＤＲを含む。一実施形態では、抗Ａ型インフルエンザ抗体又はその断片は、配列番号３、配列番号４、及び配列番号５から選択されるアミノ酸配列に対して少なくとも７５％同一のアミノ酸配列を有する１つ以上の重鎖ＣＤＲ、並びに配列番号８、配列番号９及び配列番号１０に示されるアミノ酸配列から選択されるアミノ酸配列に対して少なくとも７５％同一のアミノ酸配列を有する１つ以上の軽鎖Ｃ

ＤＲを含む。一実施形態では、抗Ａ型インフルエンザ抗体又はその断片は、配列番号３、配列番号４、及び配列番号５から選択されるアミノ酸配列を有する１つ以上の重鎖ＣＤＲを含む。一実施形態では、抗Ａ型インフルエンザ抗体又はその断片は、配列番号８、配列番号９及び配列番号１０から選択されるアミノ酸配列を有する１つ以上の軽鎖ＣＤＲを含む。別の実施形態では、抗Ａ型インフルエンザ抗体又はその断片は、配列番号３、配列番号４、及び配列番号５から選択されるアミノ酸配列を有する１つ以上の重鎖ＣＤＲ、並びに配列番号８、配列番号９及び配列番号１０から選択されるアミノ酸配列を有する１つ以上の軽鎖ＣＤＲを含む。

【００１４】

一実施形態では、抗Ａ型インフルエンザ抗体又はその断片は、配列番号２のアミノ酸配列に対して少なくとも７５％の同一性を有するアミノ酸配列を有するＶＨを含む。一実施形態では、抗Ａ型インフルエンザ抗体又はその断片は、配列番号７のアミノ酸配列に対して少なくとも７５％の同一性を有するアミノ酸配列を有するＶＬを含む。一実施形態では、抗Ａ型インフルエンザ抗体又はその断片は、配列番号２のアミノ酸配列に対して少なくとも７５％の同一性を有するアミノ酸配列を有するＶＨ、及び配列番号７のアミノ酸配列に対して少なくとも７５％の同一性を有するアミノ酸配列を有するＶＬを含む。一実施形態では、抗Ａ型インフルエンザ抗体又はその断片は、配列番号２に示されるアミノ酸配列を有するＶＨを含む。一実施形態では、抗Ａ型インフルエンザ抗体又はその断片は、配列番号７に示されるアミノ酸配列を有するＶＬを含む。一実施形態では、抗Ａ型インフルエンザ抗体又はその断片は、配列番号２に示されるアミノ酸配列を有するＶＨ、及び配列番号７に示されるアミノ酸配列を有するＶＬを含む。

【００１５】

さらなる特定の実施形態では、抗Ａ型インフルエンザ抗体は、ＭＥＤＩ８８５２を含む。

【００１６】

別の実施形態では、患者におけるＡ型インフルエンザウイルス感染を治療、低減又は予防するための組成物が提供される。一実施形態では、組成物は、Ａ型インフルエンザウイルスの少なくとも１つのグループ１サブタイプ及び少なくとも１つのグループ２サブタイプのＡ型インフルエンザウイルスヘマグルチニンに結合する能力がある抗Ａ型インフルエンザ抗体又はその断片を含み、また少なくとも約２００ｍｇ及び最大約３，５００ｍｇの抗Ａ型インフルエンザ抗体又はその断片を投与するために調合される。一実施形態では、組成物は、Ａ型インフルエンザウイルスヘマグルチニンに結合し、且つＡ型インフルエンザウイルスの少なくとも１つのグループ１サブタイプ及び少なくとも１つのグループ２サブタイプを中和する能力がある抗Ａ型インフルエンザ抗体又はその断片を含み、また少なくとも約２００ｍｇ及び最大約３，５００ｍｇの抗Ａ型インフルエンザ抗体又はその断片を患者に投与するために調合される。一実施形態では、組成物は、Ｈ１、Ｈ２、Ｈ５、Ｈ６、Ｈ８、Ｈ９、Ｈ１１、Ｈ１２、Ｈ１３、Ｈ１６、Ｈ１７、Ｈ１８、及びそれらの変異体から選択される１つ以上のＡ型インフルエンザウイルスのグループ１サブタイプ；並びにＨ３、Ｈ４、Ｈ７、Ｈ１０、Ｈ１４及びＨ１５及びそれらの変異体から選択される１つ以上のＡ型インフルエンザウイルスのグループ２サブタイプを中和する能力がある抗Ａ型インフルエンザ抗体又はその断片を含む。

【００１７】

一実施形態では、組成物は、Ａ型インフルエンザウイルスの少なくとも１つのグループ１サブタイプ及び少なくとも１つのグループ２サブタイプのＡ型インフルエンザウイルスヘマグルチニンに結合する能力がある抗Ａ型インフルエンザ抗体又はその断片を含み、また少なくとも約２００ｍｇ及び最大約３，５００ｍｇの量での静脈内注入のために調合される。一実施形態では、組成物は、Ａ型インフルエンザウイルスの少なくとも１つのグループ１サブタイプ及び少なくとも１つのグループ２サブタイプに対して結合し、且つ中和する能力がある抗Ａ型インフルエンザ抗体又はその断片を含み、また少なくとも約２００ｍｇ及び最大約３，５００ｍｇの量での静脈内注入のために調合される。一実施形態では

、組成物は、Ｈ１、Ｈ２、Ｈ５、Ｈ６、Ｈ８、Ｈ９、Ｈ１１、Ｈ１２、Ｈ１３、Ｈ１６、Ｈ１７、Ｈ１８、及びそれらの変異体から選択される１つ以上のＡ型インフルエンザウイルスのグループ１サブタイプ；並びにＨ３、Ｈ４、Ｈ７、Ｈ１０、Ｈ１４及びＨ１５及びそれらの変異体から選択される１つ以上のＡ型インフルエンザウイルスのグループ２サブタイプを中和する能力がある抗Ａ型インフルエンザ抗体又はその断片を含む。

【００１８】

一実施形態では、組成物は、Ｈ１、Ｈ２、Ｈ５、Ｈ６、Ｈ８、Ｈ９、Ｈ１１、Ｈ１２、Ｈ１３、Ｈ１６、Ｈ１７、Ｈ１８、及びそれらの変異体から選択される１つ以上のＡ型インフルエンザウイルスのグループ１サブタイプ；並びにＨ３、Ｈ４、Ｈ７、Ｈ１０、Ｈ１４、Ｈ１５及びそれらの変異体から選択される１つ以上のＡ型インフルエンザウイルスのグループ２サブタイプを排除する能力がある抗Ａ型インフルエンザ抗体又はその断片を含む。一実施形態では、抗Ａ型インフルエンザ抗体又はその断片は、１つ以上のＡ型インフルエンザウイルスのグループ１サブタイプを、ＡＤＣＣ、ＣＤＣ、又はその組み合わせを含む機構を介して排除する能力がある。

【００１９】

さらなる特定の実施形態では、組成物は、配列番号３、配列番号４、及び配列番号５に示されるアミノ酸配列から選択されるアミノ酸配列に対して少なくとも７５％同一のアミノ酸配列を有する１つ以上の重鎖ＣＤＲを有する抗Ａ型インフルエンザ抗体又はその断片を含む。別の実施形態では、組成物は、配列番号８、配列番号９及び配列番号１０に示されるアミノ酸配列から選択されるアミノ酸配列に対して少なくとも７５％同一のアミノ酸配列を有する１つ以上の軽鎖ＣＤＲを有する抗Ａ型インフルエンザ抗体又はその断片を含む。一実施形態では、組成物は、配列番号３、配列番号４、及び配列番号５から選択されるアミノ酸配列に対して少なくとも７５％同一のアミノ酸配列を有する１つ以上の重鎖ＣＤＲ、並びに配列番号８、配列番号９及び配列番号１０に示されるアミノ酸配列から選択されるアミノ酸配列に対して少なくとも７５％同一のアミノ酸配列を有する１つ以上の軽鎖ＣＤＲを有する抗Ａ型インフルエンザ抗体又はその断片を含む。一実施形態では、組成物は、配列番号３、配列番号４、及び配列番号５から選択されるアミノ酸配列を有する１つ以上の重鎖ＣＤＲを有する抗Ａ型インフルエンザ抗体又はその断片を含む。一実施形態では、組成物は、配列番号８、配列番号９及び配列番号１０から選択されるアミノ酸配列を有する１つ以上の軽鎖ＣＤＲを有する抗Ａ型インフルエンザ抗体又はその断片を含む。別の実施形態では、組成物は、配列番号３、配列番号４、及び配列番号５から選択されるアミノ酸配列を有する１つ以上の重鎖ＣＤＲ並びに配列番号８、配列番号９及び配列番号１０から選択されるアミノ酸配列を有する１つ以上の軽鎖ＣＤＲを有する抗Ａ型インフルエンザ抗体又はその断片を含む。

【００２０】

一実施形態では、組成物は、配列番号２のアミノ酸配列に対して少なくとも７５％の同一性を有するアミノ酸配列を有するＶＨを有する抗Ａ型インフルエンザ抗体又はその断片を含む。一実施形態では、組成物は、配列番号７のアミノ酸配列に対して少なくとも７５％の同一性を有するアミノ酸配列を有するＶＬを有する抗Ａ型インフルエンザ抗体又はその断片を含む。一実施形態では、組成物は、配列番号２のアミノ酸配列に対して少なくとも７５％の同一性を有するアミノ酸配列を有するＶＨ、及び配列番号７のアミノ酸配列に対して少なくとも７５％の同一性を有するアミノ酸配列を有するＶＬを有する抗Ａ型インフルエンザ抗体又はその断片を含む。一実施形態では、組成物は、配列番号２に示されるアミノ酸配列を有するＶＨを有する抗Ａ型インフルエンザ抗体又はその断片を含む。一実施形態では、組成物は、配列番号７に示されるアミノ酸配列を有するＶＬを有する抗Ａ型インフルエンザ抗体又はその断片を含む。一実施形態では、組成物は、配列番号２に示されるアミノ酸配列を有するＶＨ、及び配列番号７に示されるアミノ酸配列を有するＶＬを有する抗Ａ型インフルエンザ抗体又はその断片を含む。一実施形態では、組成物は、ＭＥＤＩ８８５２を含む。別の実施形態では、組成物は、ＭＥＤＩ８８５２及び薬学的に許容できる担体を含む。

【００２１】
別の実施形態では、容器及び容器内部の組成物、並びに少なくとも約２００ｍｇ及び最大約３，５００ｍｇの抗Ａ型インフルエンザ抗体又はその断片を患者に投与するための使用説明書を有するラベル又は添付文書を含む製品が提供され、ここで組成物は、Ａ型インフルエンザウイルスの少なくとも１つのグループ１サブタイプ及び少なくとも１つのグループ２サブタイプのＡ型インフルエンザウイルスヘマグルチニンに結合する能力がある抗Ａ型インフルエンザ抗体又はその断片を含む。別の実施形態では、容器及び容器内部の組成物、並びに少なくとも約２００ｍｇ及び最大約３，５００ｍｇの抗Ａ型インフルエンザ抗体又はその断片を患者に投与するための使用説明書を有するラベル又は添付文書を含む製品が提供され、ここで組成物は、Ａ型インフルエンザウイルスヘマグルチニンに結合し、且つＡ型インフルエンザウイルスの少なくとも１つのグループ１サブタイプ及び少なくとも１つのグループ２サブタイプを中和する能力がある抗Ａ型インフルエンザ抗体又はその断片を含む。

【００２２】
一実施形態では、製品は、Ｈ１、Ｈ２、Ｈ５、Ｈ６、Ｈ８、Ｈ９、Ｈ１１、Ｈ１２、Ｈ１３、Ｈ１６、Ｈ１７、Ｈ１８、及びそれらの変異体から選択される１つ以上のＡ型インフルエンザウイルスのグループ１サブタイプ；並びにＨ３、Ｈ４、Ｈ７、Ｈ１０、Ｈ１４、Ｈ１５及びそれらの変異体から選択される１つ以上のＡ型インフルエンザウイルスのグループ２サブタイプを中和する能力がある抗Ａ型インフルエンザ抗体又はその断片を含む組成物を含む。

【００２３】
さらなる特定の実施形態では、製品は、配列番号３、配列番号４、及び配列番号５に示されるアミノ酸配列から選択されるアミノ酸配列に対して少なくとも７５％同一のアミノ酸配列を有する１つ以上の重鎖ＣＤＲを有する抗Ａ型インフルエンザ抗体又はその断片を含む組成物を含む。別の実施形態では、製品は、配列番号８、配列番号９及び配列番号１０に示されるアミノ酸配列から選択されるアミノ酸配列に対して少なくとも７５％同一のアミノ酸配列を有する１つ以上の軽鎖ＣＤＲを有する抗Ａ型インフルエンザ抗体又はその断片を含む組成物を含む。一実施形態では、製品は、配列番号３、配列番号４、及び配列番号５から選択されるアミノ酸配列に対して少なくとも７５％同一のアミノ酸配列を有する１つ以上の重鎖ＣＤＲ、並びに配列番号８、配列番号９及び配列番号１０に示されるアミノ酸配列から選択されるアミノ酸配列に対して少なくとも７５％同一のアミノ酸配列を有する１つ以上の軽鎖ＣＤＲを有する抗Ａ型インフルエンザ抗体又はその断片を含む組成物を含む。一実施形態では、製品は、配列番号３、配列番号４、及び配列番号５から選択されるアミノ酸配列を有する１つ以上の重鎖ＣＤＲを有する抗Ａ型インフルエンザ抗体又はその断片を含む組成物を含む。一実施形態では、製品は、配列番号８、配列番号９及び配列番号１０から選択されるアミノ酸配列を有する１つ以上の軽鎖ＣＤＲを有する抗Ａ型インフルエンザ抗体又はその断片を含む組成物を含む。別の実施形態では、製品は、配列番号３、配列番号４、及び配列番号５から選択されるアミノ酸配列を有する１つ以上の重鎖ＣＤＲ、並びに配列番号８、配列番号９及び配列番号１０から選択されるアミノ酸配列を有する１つ以上の軽鎖ＣＤＲを有する抗Ａ型インフルエンザ抗体又はその断片を含む組成物を含む。

【００２４】
一実施形態では、製品は、配列番号２のアミノ酸配列に対して少なくとも７５％の同一性を有するアミノ酸配列を有するＶＨを有する抗Ａ型インフルエンザ抗体又はその断片を含む組成物を含む。一実施形態では、製品は、配列番号７のアミノ酸配列に対して少なくとも７５％の同一性を有するアミノ酸配列を有するＶＬを有する抗Ａ型インフルエンザ抗体又はその断片を含む組成物を含む。一実施形態では、製品は、配列番号２のアミノ酸配列に対して少なくとも７５％の同一性を有するアミノ酸配列を有するＶＨ、及び配列番号７のアミノ酸配列に対して少なくとも７５％の同一性を有するアミノ酸配列を有するＶＬを有する抗Ａ型インフルエンザ抗体又はその断片を含む組成物を含む。一実施形態では、

製品は、配列番号２に示されるアミノ酸配列を有するＶＨを有する抗Ａ型インフルエンザ抗体又はその断片を含む組成物を含む。一実施形態では、製品は、配列番号７に示されるアミノ酸配列を有するＶＬを有する抗Ａ型インフルエンザ抗体又はその断片を含む組成物を含む。一実施形態では、製品は、配列番号２に示されるアミノ酸配列を有するＶＨ、及び配列番号７に示されるアミノ酸配列を有するＶＬを有する抗Ａ型インフルエンザ抗体又はその断片を含む組成物を含む。

【００２５】

一実施形態では、製品は、ＭＥＤＩ８８５２を含む組成物を含む。別の実施形態では、製品は、ＭＥＤＩ８８５２及び薬学的に許容できる担体を含む組成物を含む。

【図面の簡単な説明】

【００２６】

【図１】静脈内、２５０ｍｇ、７５０ｍｇ、１，５００ｍｇ及び３，０００ｍｇのＭＥＤＩ８８５２で治療される対象（ｎ＝５～１０名／群／時点）における平均（＋／－標準偏差）濃度特性を示すグラフである。

【図２】７５０ｍｇ又は３０００ｍｇのＭＥＤＩ８８５２で治療された対象の集団（ｎ＝１０００名の対象／群）におけるシミュレート濃度を示すグラフである。バンドは９０％信頼区間を表す。実線及び点線は各々、７５０及び３０００ｍｇ群における中央値を表す。

【発明を実施するための形態】

【００２７】

詳細な説明

導入

本明細書に記載されるのは、対象におけるＡ型インフルエンザウイルス感染の治療、低減、及び／又は予防に関する方法、組成物、キット及び製品である。

【００２８】

用語法

本発明を詳細に記載する前に、この発明が具体的な組成物又は方法ステップに限定されるものでなく、それ自体変わり得ることが理解されるべきである。本明細書及び添付の特許請求の範囲で使用されるとき、単数形「ａ」、「ａｎ」及び「ｔｈｅ」は、文脈上明確に別段の指示がない限り、複数形の指示対象を含むことに留意しなければならない。

【００２９】

用語「約」は、例えば、化合物、組成物、濃縮物又は調合物を作製するために用いられる典型的な測定及びハンドリング手順を通じて；これらの手順における不注意なエラーを通じて；本方法を実施するために用いられる出発物質又は成分の製造、供給源、又は純度における差異、及び類似の検討事項を通じて生じ得る数量における変動を指す。用語「約」はまた、特定の初期濃度又は混合を有する化合物、組成物、濃縮物又は調合物の経年劣化に起因して異なる量、及び特定の初期濃度又は混合を有する化合物、組成物、濃縮物又は調合物の混合又は処理に起因して異なる量を包含する。用語「約」によって修飾される場合、本明細書に貼付される特許請求の範囲は、これらの量に対する等価物を含む。

【００３０】

特に定義されない限り、本明細書で使用される全ての科学技術用語は、本発明が関係する技術分野の当業者が一般に理解するのと同じ意味を有する。例えば、Ｃｏｎｃｉｓｅ Ｄｉｃｔｉｏｎａｒｙ ｏｆ Ｂｉｏｍｅｄｉｃｉｎｅ ａｎｄ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ，Ｊｕｏ，Ｐｅｉ－Ｓｈｏｗ，（２００２）２ｎｄ ｅｄ．，ＣＲＣ Ｐｒｅｓｓ；Ｔｈｅ Ｄｉｃｔｉｏｎａｒｙ ｏｆ Ｃｅｌｌ ａｎｄ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ，３ｒｄ ｅｄ．（１９９９）Ａｃａｄｅｍｉｃ Ｐｒｅｓｓ；及びＯｘｆｏｒｄ Ｄｉｃｔｉｏｎａｒｙ Ｏｆ Ｂｉｏｃｈｅｍｉｓｔｒｙ Ａｎｄ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ，Ｒｅｖｉｓｅｄ（２０００）Ｏｘｆｏｒｄ Ｕｎｉｖｅｒｓｉｔｙ Ｐｒｅｓｓが、この発明において使用される用語の多くの一般的な辞書を当業者に提供する。

【００３１】
アミノ酸は、本明細書中で、ＩＵＰＡＣ－ＩＵＢ生化学命名委員会（ＩＵＰＡＣ－ＩＵＢ Ｂｉｏｃｈｅｍｉｃａｌ Ｎｏｍｅｎｃｌａｔｕｒｅ Ｃｏｍｍｉｓｓｉｏｎ）により推奨される、その一般に公知の３文字記号又は１文字記号のいずれかによって指すことができる。同様に、ヌクレオチドは、その一般に認められた１文字コードによって指すことができる。
【００３２】
抗体の可変ドメイン、相補性決定領域（ＣＤＲ）及びフレームワーク領域（ＦＲ）におけるアミノ酸の付番は、別段の指示がない限り、Ｋａｂａｔ ｅｔ ａｌ．（１９９１）Ｓｅｑｕｅｎｃｅｓ ｏｆ Ｐｒｏｔｅｉｎｓ ｏｆ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｉｃａｌ Ｉｎｔｅｒｅｓｔ，５ｔｈ Ｅｄ．Ｐｕｂｌｉｃ Ｈｅａｌｔｈ Ｓｅｒｖｉｃｅ，Ｎａｔｉｏｎａｌ Ｉｎｓｔｉｔｕｔｅｓ ｏｆ Ｈｅａｌｔｈ，Ｂｅｔｈｅｓｄａ，ＭＤ．に示されるＫａｂａｔ定義に従う。この付番システムを用いると、実際の線状のアミノ酸配列は、可変ドメインのＦＲ又はＣＤＲの短縮、又はそれへの挿入に対応する、より少ないか又は追加的なアミノ酸を含んでもよい。例えば、重鎖可変ドメインは、Ｈ２の残基５２の後への単一のアミノ酸の挿入（Ｋａｂａｔによると残基５２ａ）及び重鎖ＦＲ残基８２の後に挿入された残基（例えば、Ｋａｂａｔによると残基８２ａ、８２ｂ、及び８２ｃなど）を含んでもよい。残基のＫａｂａｔ付番は、所与の抗体については、抗体の配列と「標準的な」Ｋａｂａｔ付番配列とが相同な領域での整列によって判定してもよい。フレームワーク残基の最大の整列は、Ｆｖ領域において使用されるべきである付番システムにおける「スペーサー」残基の挿入が必要である場合が多い。さらに、任意の所与のＫａｂａｔ部位番号での特定の個別の残基の同一性は、種間又は対立遺伝子の相違により、抗体鎖から抗体鎖にかけて変化し得る。
【００３３】
定義
用語「核酸」又は「ポリヌクレオチド」は、限定はされないが、ヌクレオチドのポリマー、例えばＤＮＡ及びＲＮＡポリマー、及び修飾されたオリゴヌクレオチド、例えば溶液中の生物学的ＲＮＡ又はＤＮＡに典型的でない塩基を有するオリゴヌクレオチド、例えば２’－Ｏ－メチル化されたオリゴヌクレオチドを含むヌクレオチドのストリングに対応する単量体単位の任意の物理的ストリングを包含する。ポリヌクレオチドは、従来的なホスホジエステル結合又は非従来的な結合、例えばアミド結合、例えばペプチド核酸（ＰＮＡ）中に見出されるものを含み得る。核酸は、一本鎖又は二本鎖であり得る。別段の指示がない限り、核酸配列は、明示される配列に加えて、相補的配列を包含する。
【００３４】
用語「遺伝子」は、生物学的機能に関連した核酸を指すように広義に用いられる。従って、遺伝子は、その発現に要求されるコード配列及び／又は制御配列を含む。用語「遺伝子」は、特定のゲノム配列、並びにそのゲノム配列によってコードされるｃＤＮＡ又はｍＲＮＡに適用される。遺伝子はまた、例えば他のタンパク質に対する認識配列を形成する、発現されない核酸配列を含む。発現されない制御配列は、隣接又は近隣配列の転写をもたらす、転写因子などの調節タンパク質が結合する対象の「プロモーター」及び「エンハンサー」を含む。例えば、ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドは、１つ以上のコード領域に作動可能に結合されたプロモーター及び／又は他の転写若しくは翻訳調節エレメントを含み得る。「作動可能に結合された」は、遺伝子産物の発現を制御配列の影響下又は制御下に置くような方法で、１つ以上の制御配列に結合された遺伝子産物に対するコード領域を指す。「遺伝子の発現」又は「核酸の発現」は、文脈によって示されるように、ＤＮＡのＲＮＡへの転写、ＲＮＡのポリペプチドへの翻訳、又は転写と翻訳の双方を指す。
【００３５】
本明細書で用いられるとき、用語「コード領域」は、アミノ酸に翻訳され得るコドンを含む核酸の一部を指す。「停止コドン」（ＴＡＧ、ＴＧＡ、又はＴＡＡ）はアミノ酸に翻

訳されないが、コード領域の一部であると一般に考えられる。しかし、隣接配列、例えば、プロモーター、リボソーム結合部位、転写ターミネーター、及びイントロンは、コード領域の一部であると一般に考えられない。ベクターは、単一のコード領域を含み得るか、又は２つ以上のコード領域を含み得る。加えて、ベクター、ポリヌクレオチド、又は核酸は、目的の遺伝子産物、例えば、抗体、又はその抗原結合断片、変異体、又は誘導体をコードする核酸に対して融合又は非融合のいずれかで、異種コード領域をコードし得る。異種コード領域は、限定はされないが、特定化されたエレメント又はモチーフ、例えば分泌型シグナルペプチド又は異種機能ドメインを含む。

【００３６】

用語「ベクター」は、核酸が生物、細胞、又は細胞成分の間で増殖及び／又は移動され得る手段を指す。ベクターは、限定はされないが、プラスミド、ウイルス、バクテリオファージ、プロウイルス、ファージミド、トランスポゾン、及び人工染色体を含み、それらは自律的に複製するか又は宿主細胞の染色体に組み込む能力がある。ベクターはまた、限定はされないが、ネイキッドＲＮＡポリヌクレオチド、ネイキッドＤＮＡポリヌクレオチド、同じ鎖内にＤＮＡ及びＲＮＡの双方を含むポリヌクレオチド、ポリリジンコンジュゲートＤＮＡ又はＲＮＡ、ペプチドコンジュゲートＤＮＡ又はＲＮＡ、リポソームコンジュゲートＤＮＡを含み、それらは自律的に複製することがない。「発現ベクター」は、ベクター、例えばプラスミドであり、それはその中に組み込まれる核酸の発現及び複製を促進する能力がある。典型的には、発現されるべき核酸は、プロモーター及び／又はエンハンサーに「作動可能に連結され」、プロモーター及び／又はエンハンサーによる転写調節制御を受ける。

【００３７】

用語「宿主細胞」は、異種核酸、例えばベクターを含む細胞を指し、核酸の複製及び／又は発現を支持する。宿主細胞は、原核細胞、例えば大腸菌（Ｅ．Ｃｏｌｉ）、又は真核細胞、例えば、酵母、昆虫、両生類、鳥類又は哺乳動物細胞、例えばヒト細胞、例えばＨＥｐ－２細胞及びベロ細胞であり得る。

【００３８】

用語「導入される」は、異種又は単離核酸を参照するとき、核酸の真核又は原核細胞への導入を指し、ここでは核酸は、細胞のゲノム中に組み込まれるか、自律レプリコンに変換されるか、又は一時的に発現され得る。同用語は、「感染」、「遺伝子導入」、「形質転換」及び「形質導入」のような方法を含む。核酸を宿主細胞に導入するため、限定はされないが、電気穿孔、リン酸カルシウム沈殿、脂質媒介性トランスフェクション、及びリポフェクションを含む種々の方法を用いることができる。

【００３９】

用語「発現」は、遺伝子からの情報が機能的遺伝子産物の合成において用いられるプロセスを指す。遺伝子産物は、タンパク質であることが多いが、機能的ＲＮＡでもあり得る。遺伝子発現は、対応するｒＲＮＡ、ｔＲＮＡ、ｍＲＮＡ、ｓｎＲＮＡ及び／又は遺伝子産物のタンパク質レベルでの存在を測定することにより検出され得る。

【００４０】

用語「ポリペプチド」は、アミド結合（ペプチド結合としても公知）により線状に連結された２つ以上のアミノ酸残基を含む分子、例えばペプチド又はタンパク質を指す。用語「ポリペプチド」は、２つ以上のアミノ酸の任意の１つ若しくは複数の鎖を指し、特定の長さの産物を指さない。従って、ペプチド、ジペプチド、トリペプチド、オリゴペプチド、「タンパク質」、「アミノ酸鎖」、又は２つ以上のアミノ酸の１つ若しくは複数の鎖を指すために用いられる任意の他の用語が「ポリペプチド」の定義内に含まれ、用語「ポリペプチド」は、これらの用語のいずれかに対して代わりに、又は交換可能に用いることができる。用語「ポリペプチド」はまた、限定はされないが、グリコシル化、アセチル化、リン酸化、アミド化、公知の保護／遮断基による誘導体化、タンパク質分解切断、又は非天然アミノ酸による修飾を含むポリペプチドの発現後修飾の産物を指すように意図される。ポリペプチドは、天然生物学的供給源に由来するか又は組換え技術により生成され得、

また必ずしも指定の核酸配列から翻訳されない。それは、任意の方法で、例えば化学合成により作製され得る。ポリペプチドのアミノ酸残基は、天然又は非天然であり得、非置換、非修飾、置換又は修飾であり得る。「アミノ酸配列」は、アミノ酸残基のポリマー、例えば、状況に応じて、タンパク質又はポリペプチド、又はアミノ酸ポリマーを表す文字列である。

【００４１】

本明細書で用いられるとき、用語「抗体」は、抗原の抗原決定基の特徴に対して相補的な内部表面形状及び電荷分布を伴う三次元結合空間を有するポリペプチド鎖のフォールディングから形成される少なくとも１つの結合ドメインを含むポリペプチド又はポリペプチドの群を指す。抗体は、典型的には、２対のポリペプチド鎖を有する四量体形態を有し、ここで各対合は１つの「軽」鎖及び１つの「重」鎖を有し、ここで各軽鎖／重鎖対の可変領域は抗体結合部位を形成する。典型的には、各軽鎖は１つの共有結合性ジスルフィド結合により重鎖に連結される一方、ジスルフィド結合の数は、異なる免疫グロブリンアイソタイプの重鎖間で変動する。重鎖及び軽鎖の各々はまた、規則的に隔てられた鎖間ジスルフィド架橋を有する。典型的には、各重鎖は、一末端に可変ドメイン（ＶＨ）とその後に幾つかの定常ドメイン（ＣＨ）を有し、各軽鎖は、一末端に可変ドメイン（ＶＬ）と他方末端に定常ドメイン（ＣＬ）を有し、ここで軽鎖の定常ドメインは重鎖の第１の定常ドメインと整列され、軽鎖の可変ドメインは重鎖の可変ドメインと整列される。

【００４２】

用語「抗体（ａｎｔｉｂｏｄｙ）」、「抗体（ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ）」及び「免疫グロブリン」は、本明細書で用いられるとき、モノクローナル抗体（完全長モノクローナル抗体を含む）、ポリクローナル抗体、少なくとも２つの異なるエピトープ結合断片から形成される多選択性抗体（例えば二重特異性抗体）、ＣＤＲ移植、ヒト抗体、ヒト化抗体、ラクダ化抗体、キメラ抗体、一本鎖Ｆｖ（ｓｃＦｖ）、一本鎖抗体、単一ドメイン抗体、Ｆａｂ断片、Ｆａｂ’断片、Ｆ（ａｂ’）$_2$断片、所望される生物学的活性を示す抗体断片（例えば抗原結合部分）、ジスルフィド結合Ｆｖ（ｄｓＦｖ）、及び抗イディオタイプ（抗Ｉｄ）抗体、細胞内抗体、及び上記のいずれかのエピトープ結合断片又は誘導体を包含する。特に、抗体は、少なくとも１つの抗原結合部位を含む免疫グロブリン分子及び免疫グロブリン分子の免疫学的に活性な断片を含む。免疫グロブリン分子は、任意のアイソタイプ（例えば、ＩｇＧ、ＩｇＥ、ＩｇＭ、ＩｇＤ、ＩｇＡ及びＩｇＹ）、サブアイソタイプ（例えば、ＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３、ＩｇＧ４、ＩｇＡ１及びＩｇＡ２）又はアロタイプ（例えば、Ｇｍ、例えば、Ｇ１ｍ（ｆ、ｚ、ａ又はｘ）、Ｇ２ｍ（ｎ）、Ｇ３ｍ（ｇ、ｂ、又はｃ）、Ａｍ、Ｅｍ、及びＫｍ（１、２又は３））であり得る。抗体は、任意の哺乳動物種、例えば限定はされないが、ヒト、サル、ブタ、ウマ、ウサギ、イヌ、ネコ、及びマウス、又は他の動物、例えば限定はされないがニワトリを含む鳥類に由来してもよい。抗体は、異種ポリペプチド配列、例えば精製を促進するためのタグに融合されてもよい。

【００４３】

所望されるエフェクター機能又は血清半減期を提供するため、抗体はＦｃ領域内で修飾され得る。下記のセクションにてさらに詳細に考察されるように、適切なＦｃ領域下で、細胞表面上に結合されるネイキッド抗体は、例えば抗体依存性細胞傷害性（ＡＤＣＣ）を介してか、補体依存性細胞傷害性（ＣＤＣ）における補体を動員することにより、又はＡ型インフルエンザウイルス上の結合された抗体を認識する１つ以上のエフェクターリガンドを発現し、その後に抗体依存性細胞媒介性食作用（ＡＤＣＰ）における細胞の食作用を引き起こす非特異的細胞傷害性細胞を動員することにより、細胞傷害性、又はいくつかの他の機構を誘導し得る。或いは、例えば、副作用又は治療合併症を低減するようにエフェクター機能を排除又は低減することが望ましい場合、例えばＦｃＲｎに対する結合親和性を増加させ、血清半減期を増加させるため、修飾されたＦｃ領域が用いられてもよい。或いは、血清半減期を増加させるため、Ｆｃ領域はＰＥＧ又はアルブミンなどの部分にコンジュゲートされ得る。

【００４４】
本明細書で用いられるとき、用語「変異体」は、親抗体配列内の１つ以上のアミノ酸残基の付加、欠失及び／又は置換が理由で、「親」抗体のアミノ酸配列とアミノ酸配列が異なる抗体を指す。変異体抗体は、１つ以上の置換、内部欠失を含む欠失、融合タンパク質をもたらす付加を含む付加、又は例えばＭＥＤＩ８８５２を含む親抗体のアミノ酸残基の又は配列番号２若しくは配列番号７で示されるアミノ酸配列における保存的置換を含んでもよい。
【００４５】
本明細書で用いられるとき、用語「パーセント（％）配列同一性」、又は「相同性」は、最大のパーセント配列同一性を得るため、必要に応じて、配列を整列し、ギャップを導入した後の（ここでは配列同一性の一部としての任意の保存的置換を考慮しない）、参照配列、例えば親抗体配列内のアミノ酸残基又はヌクレオチドと同一である、候補配列内のアミノ酸残基又はヌクレオチドの百分率を指す。配列の整列は、手作業により、又はＳｍｉｔｈ ａｎｄ Ｗａｔｅｒｍａｎ（１９８１） Ａｄｓ Ａｐｐ．Ｍａｔｈ．２，４８２の相同性アルゴリズム；Ｎｅｄｄｌｅｍａｎ ａｎｄ Ｗｕｎｓｃｈ（１９７０） Ｊ．ＭｏＩ．Ｂｉｏｌ．４８，４４３のアルゴリズム；Ｐｅａｒｓｏｎ ａｎｄ Ｌｉｐｍａｎ（１９８８） Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ８５：２４４４の方法を用いるか、又はこれらアルゴリズム（Ｗｉｓｃｏｎｓｉｎ Ｇｅｎｅｔｉｃｓ Ｓｏｆｔｗａｒｅ Ｐａｃｋａｇｅ，Ｇｅｎｅｔｉｃｓ Ｃｏｍｐｕｔｅｒ Ｇｒｏｕｐ，５７５ Ｓｃｉｅｎｃｅ Ｄｒｉｖｅ，Ｍａｄｉｓｏｎ，Ｗｉｓ．におけるＧＡＰ、ＢＥＳＴＦＩＴ、ＦＡＳＴＡ、ＢＬＡＳＴ Ｐ、ＢＬＡＳＴ Ｎ及びＴＦＡＳＴＡ）に基づく１つ以上のコンピュータープログラムを用いて、生成されてもよい。
【００４６】
用語「保存的アミノ酸置換」は、第１のアミノ酸の、第１のアミノ酸の場合と類似した化学及び／又は物理特性（例えば、電荷、構造、極性、疎水性／親水性）を有する第２のアミノ酸による置換を指す。保存的アミノ酸置換は、関与する残基の極性、電荷、溶解度、疎水性、親水性、及び／又は両親媒性における類似性に基づいて作製されてもよい。例えば、非極性（疎水性）アミノ酸として、アラニン、ロイシン、イソロイシン、バリン、プロリン、フェニルアラニン、トリプトファン、及びメチオニンが挙げられ；極性中性アミノ酸として、グリシン、セリン、スレオニン、システイン、チロシン、アスパラギン、及びグルタミンが挙げられ；正電荷（塩基性）アミノ酸として、アルギニン、リジン、及びヒスチジンが挙げられ；また負電荷（酸性）アミノ酸として、アスパラギン酸及びグルタミン酸が挙げられる。加えて、グリシン及びプロリンは、鎖配向に影響を及ぼし得る残基である。非保存的置換は、これらのクラスのうちの１つのメンバーを別のクラスのメンバーと交換することを伴い得る。さらに、必要であれば、非古典的アミノ酸又は化学的アミノ酸類似体が、置換又は付加として抗体配列に導入され得る。非古典的アミノ酸として、限定はされないが、共通アミノ酸のＤ－異性体、α－アミノイソ酪酸、４－アミノ酪酸、Ａｂｕ、２－アミノ酪酸、γ－Ａｂｕ、ε－Ａｈｘ、６－アミノヘキサン酸、Ａｉｂ、２－アミノイソ酪酸、３－アミノプロピオン酸、オルニチン、ノルロイシン、ノルバリン、ヒドロキシプロリン、サルコシン、シトルリン、システイン酸、ｔ－ブチルグリシン、ｔ－ブチルアラニン、フェニルグリシン、シクロヘキシルアラニン、β－アラニン、フルオロアミノ酸、デザイナーアミノ酸、例えば、β－メチルアミノ酸、Ｃα－メチルアミノ酸、Ｎα－メチルアミノ酸、及び一般的アミノ酸類似体が挙げられる。
【００４７】
抗体変異体は、例えば１つ以上の置換、欠失及び／又は付加を含む１つ以上のアミノ酸の改変が抗体の可変及び／又はフレームワーク領域の１つ以上に導入されることにより、作製され得る。フレームワーク領域残基の１つ以上の改変は、抗体の抗原に対する結合親和性における改善をもたらすことがある。これは特に、これらの変化がヒト化抗体に設けられるときに該当し得、ここでフレームワーク領域はＣＤＲ領域よりも異なる種に由来し得る。修飾され得るフレームワーク領域残基の例として、抗原に非共有結合的に直接結合

するもの（Ａｍｉｔ ｅｔ ａｌ．，（１９８６） Ｓｃｉｅｎｃｅ，２３３：７４７－７５３）；ＣＤＲの立体構造に対して相互作用／影響するもの（Ｃｈｏｔｈｉａ ｅｔ ａｌ．，（１９８７） Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．，１９６：９０１－９１７）；及び／又はＶＬ－ＶＨ界面に関与するもの（米国特許第５，２２５，５３９号明細書及び米国特許第６，５４８，６４０号明細書）が挙げられる。一実施形態では、約１～約５のフレームワーク残基が改変されてもよい。

【００４８】

改変抗体を作製するための１つの有用な手順は、「アラニンスキャニング突然変異誘発」と称される（Ｃｕｎｎｉｎｇｈａｍ ａｎｄ Ｗｅｌｌｓ，（１９８９） Ｓｃｉｅｎｃｅ，２４４：１０８１－１０８５）。この方法では、アミノ酸と標的抗原との相互作用を改変するため、超可変領域残基の１つ以上がアラニン又はポリアラニン残基によって置換される。次に、置換に対して機能的感受性を示すそれらの１つ又は複数の超可変領域残基が、置換部位で又は置換部位用に追加的な又は他の突然変異を導入することにより精緻化される。従って、アミノ酸配列変異を導入するための部位は予め決定されるが、突然変異の性質それ自体は予め決定される必要はない。次に、このように産生されたＡｌａ突然変異体は、生物学的活性についてスクリーニングされ得る。

【００４９】

用語「特異的に結合する」は、抗体又はその抗原結合断片、変異体、又は誘導体がエピトープにその抗原結合ドメインを介して、それがランダムな無関係のエピトープに結合する場合よりも容易に結合することを指す。用語「特異性」は、特定の抗体又はその断片が特定のエピトープに結合する場合の相対的親和性を定めるため、本明細書で用いられる。

【００５０】

用語「エピトープ」は、本明細書で用いられるとき、抗体結合ドメインに結合する能力があるタンパク質決定基を指す。エピトープは通常、アミノ酸又は糖の側鎖など、分子の化学的活性表面群（ｇｒｏｕｐｉｎｇｓ）を含み、また通常、特定の三次元構造特性、並びに特定の電荷特性を有する。立体構造エピトープと非立体構造（ｎｏｎ－ｃｏｎｆｏｒｍａｔｉｏｎａｌ）エピトープは、後者ではなく前者への結合が変性溶媒の存在下で失われるという点から区別される。用語「不連続エピトープ」は、本明細書で用いられるとき、タンパク質の一次配列内の少なくとも２つの分かれた領域から形成される、タンパク質抗原上の立体構造エピトープを指す。

【００５１】

本明細書で用いられるとき、用語「親和性」は、個別のエピトープが免疫グロブリン分子の結合ドメインと結合する力の尺度を指す。

【００５２】

用語「単離された」は、生物学的材料、例えば核酸又はタンパク質であって、通常随伴するか又はそれとその天然環境下で相互作用する成分から実質的に遊離されたものを指す。或いは、単離された材料は、その天然環境下でその材料とともに見出されない材料を含んでもよい。例えば、材料がその天然環境下、例えば細胞内に存在する場合、その材料は、その環境下で見出される材料にとって天然でない細胞内の位置に置かれていてもよい。例えば、天然に存在する核酸は、それがその核酸にとって天然でないゲノムの遺伝子座に天然に存在しない手段により導入される場合、単離されたと考えることができる。かかる核酸は、「異種」核酸とも称される。

【００５３】

用語「組換え」は、ヒト介入により人工的又は合成的に改変されている材料を指す。改変は、その天然環境又は状態の内部の又はそれから除かれた材料に対して実施され得る。例えば、「組換え核酸」は、例えば、クローニング、ＤＮＡシャフリング又は他の方法を通して、又は化学的若しくは他の突然変異誘発により、核酸を組み換えることによって作製される核酸を指してもよく；「組換えポリペプチド」又は「組換えタンパク質」は、組換え核酸の発現により生成されるポリペプチド又はタンパク質を指し得る。

【００５４】

本明細書で用いられるとき、用語「操作された」は、例えば、組換え技術、インビトロペプチド合成、ペプチドの酵素的又は化学的カップリング、又はその組み合わせを含む合成手段による核酸又はポリペプチド分子の操作を含む。

【００５５】

本明細書で用いられるとき、用語「有効量」又は「治療有効量」は、所与の条件及び投与計画における所望される臨床成績を実現するのに必要又は十分な治療組成物の量、例えば、対象におけるインフルエンザ感染を予防、低減及び／又は治療する能力がある化合物の濃度を達成するのに十分な量を指す。かかる量及び濃度は当業者によって決定され得、典型的には、限定はされないが、治療されるべき状態、選択される投与経路、投与される実際の化合物、年齢、体重、及び個別患者の応答、及び患者の症状の重症度を含む関連する状況の観点で、医師によって決定されることになる。

【００５６】

本明細書で用いられるとき、用語「治療組成物」は、治療用途を有する化合物又は組成物を指し、限定はされないが、生物学的化合物、例えば、抗体、タンパク質及び核酸、並びに化学的に合成される小有機分子化合物を含む。

【００５７】

本明細書で用いられるとき、用語「医薬組成物」は、治療有効量の治療薬を、薬学的に許容できる担体、必要に応じて１つ以上の希釈剤又は賦形剤と一緒に含む組成物を指す。本明細書で用いられるとき、用語「薬学的に許容できる」は、連邦若しくは州政府の規制当局によって認可されるか、又は哺乳類、より詳細にはヒトにおいて用いられる米国薬局方（Ｕ．Ｓ．Ｐｈａｒｍａｃｏｐｅｉａ）、ヨーロッパ薬局方（Ｅｕｒｏｐｅａｎ Ｐｈａｒｍａｃｏｐｅｉａ）又は他の一般に認識された薬局方に列挙されることを意味する。

【００５８】

本明細書で用いられるとき、用語「治療」又は「治療する」は、治療的処置及び予防的（ｐｒｏｐｈｙｌａｃｔｉｃ）又は予防的（ｐｒｅｖｅｎｔａｔｉｖｅ）処置の双方を指し、その目的は、インフルエンザ感染の１つ以上の症状を安定化、予防、緩和若しくは低減するか、又はインフルエンザ感染の進行を遅延、予防、若しくは阻害することである。治療はまた、対象におけるＡ型インフルエンザウイルスなどの感染病原体のクリアランス又は低減を指し得、「治療」はまた、治療を受けてない場合に予想される生存と比べて、生存を延長することを意味し得る。治療は、感染が完全に治癒されることを意味する必要はない。

【００５９】

本明細書で用いられるとき、用語「対象」又は「患者」は、脊索動物亜門（ｓｕｂｐｈｙｌｕｍ ｃｏｒｄａｔａ）、例えば限定はされないが、ヒト及び他の霊長類、例えばチンパンジー及び他の類人猿及びサル種などの非ヒト霊長類；ウシ、ヒツジ、ブタ、ヤギ及びウマなどの家畜；イヌ及びネコなどの家庭内哺乳類；マウス、ラット及びモルモットなどの齧歯類を含む実験動物；ニワトリ、シチメンチョウ及び他の大型家禽、アヒル、及びガチョウなどの飼い慣らされた鳥、野鳥及び狩猟鳥を含む鳥類の任意のメンバーを指す。用語「哺乳類」及び「動物」は、この定義に含まれる。成体及び新生児哺乳類は、包含されるように意図される。

【００６０】

本明細書で用いられるとき、用語「中和する」は、抗体、又はその抗原結合断片が、感染病原体、例えばＡ型インフルエンザウイルスに結合し、且つ生物学的活性、例えば感染病原体の病原性を低減する能力を指す。一実施形態では、抗体又はその断片は、Ａ型インフルエンザウイルスの少なくとも１つの特定エピトープ又は抗原決定基に免疫特異的に結合する。さらなる特定の実施形態では、抗体又はその断片は、Ａ型インフルエンザウイルスのＨＡストークタンパク質の少なくとも１つの特定エピトープ又は抗原決定基に免疫特異的に結合する。

【００６１】

抗体は、感染病原体、例えばＡ型インフルエンザウイルスの活性を、ウイルスの生活環

の中での様々なポイントで中和することができる。例えば、抗体は、ウイルスと１つ以上の細胞表面受容体との相互作用に干渉することにより、ウイルスの標的細胞への結合に干渉し得る。或いは、抗体は、例えば、受容体介在性エンドサイトーシスによりウイルス内部移行に干渉することにより、ウイルスのその受容体との１つ以上の結合後の相互作用に干渉し得る。

【００６２】

抗Ａ型インフルエンザ抗体

本明細書に記載されるのは、Ａ型インフルエンザウイルスに免疫特異的に結合する抗体又はその断片を含む方法、組成物及び製品である。一実施形態では、抗体又はその断片は、Ａ型インフルエンザウイルスに特異的な少なくとも１つのエピトープに免疫特異的に結合する。さらなる特定の実施形態では、抗体又はその断片は、Ａ型インフルエンザウイルスのＨＡストークタンパク質上のエピトープに免疫特異的に結合する。一実施形態では、抗体又はその抗原結合断片は、本明細書に記載の通り、Ａ型インフルエンザウイルスの１つ以上のグループ１サブタイプ及び１つ以上のグループ２サブタイプに対して結合し且つ／又は中和する能力がある。一実施形態では、抗体又はその抗原結合断片は、少なくともＨ１、Ｈ２、Ｈ３、Ｈ４、Ｈ５、Ｈ６、Ｈ７、Ｈ８、Ｈ９、Ｈ１０、Ｈ１１、Ｈ１２、Ｈ１３、Ｈ１４、Ｈ１５、Ｈ１６、Ｈ１７、Ｈ１８又は全てのＡ型インフルエンザのＨＡサブタイプの中で保存されるエピトープに結合する。別の実施形態では、抗体又はその抗原結合断片は、Ｈ１、Ｈ２、Ｈ５、Ｈ６、Ｈ８、Ｈ９、Ｈ１１、Ｈ１２、Ｈ１３及びＨ１６から選択される１つ以上、又は少なくとも１、２、３、４、５、６、７、８、９、若しくは１０のＡ型インフルエンザウイルスのグループ１サブタイプ、並びにＨ３、Ｈ４、Ｈ７、Ｈ１０、Ｈ１４及びＨ１５から選択される１つ以上、又は少なくとも１、２、３、４、５、若しくは６つのグループ２サブタイプの中で保存されるエピトープに結合する。

【００６３】

一実施形態では、抗体又はその抗原結合断片は、少なくともＨ１、Ｈ２、Ｈ３、Ｈ４、Ｈ５、Ｈ６、Ｈ７、Ｈ８、Ｈ９、Ｈ１０、Ｈ１１、Ｈ１２、Ｈ１３、Ｈ１４、Ｈ１５、Ｈ１６、Ｈ１７若しくはＨ１８又は全てのＡ型インフルエンザサブタイプに、約０．０１ｕｇ／ｍｌ～約５ｕｇ／ｍｌ、又は約０．０１ｕｇ／ｍｌ～約０．５ｕｇ／ｍｌ、又は約０．０１ｕｇ／ｍｌ～約０．１ｕｇ／ｍｌ、又は約５ｕｇ／ｍｌ、１ｕｇ／ｍｌ、０．５ｕｇ／ｍｌ、０．１ｕｇ／ｍｌ、若しくは０．０５ｕｇ／ｍｌ未満のＥＣ５０で結合する。別の実施形態では、抗体又はその抗原結合断片は、Ｈ１、Ｈ２、Ｈ５、Ｈ６、Ｈ８、Ｈ９、Ｈ１１、Ｈ１２、Ｈ１３及びＨ１６から選択される１つ以上、又は少なくとも１、２、３、４、５、６、７、８、９、若しくは１０のＡ型インフルエンザウイルスのグループ１サブタイプ、並びにＨ３、Ｈ４、Ｈ７、Ｈ１０、Ｈ１４及びＨ１５から選択される１つ以上、又は少なくとも１、２、３、４、５、又は６つのグループ２サブタイプに、約０．０１ｕｇ／ｍｌ～約５ｕｇ／ｍｌ、又は約０．０１ｕｇ／ｍｌ～約０．５ｕｇ／ｍｌ、又は約０．０１ｕｇ／ｍｌ～約０．１ｕｇ／ｍｌ、又は約５ｕｇ／ｍｌ、１ｕｇ／ｍｌ、０．５ｕｇ／ｍｌ、０．１ｕｇ／ｍｌ、若しくは０．０５ｕｇ／ｍｌ未満のＥＣ５０で結合する。一実施形態では、抗体は、約０．０１ｕｇ／ｍｌ～約５ｕｇ／ｍｌの間、又は約０．０１ｕｇ／ｍｌ～約０．５ｕｇ／ｍｌの間、又は約０．０１ｕｇ／ｍｌ～約０．１ｕｇ／ｍｌの間、又は約５ｕｇ／ｍｌ未満、１ｕｇ／ｍｌ、０．５ｕｇ／ｍｌ、０．１ｕｇ／ｍｌ、又は０．０５ｕｇ／ｍｌのEC_{50}で、Ｈ２、Ｈ４、Ｈ５、Ｈ６、Ｈ７、及びＨ９などのパンデミックを引き起こす可能性を有する１つ以上のＡ型インフルエンザサブタイプに結合する。一実施形態では、抗体は、約０．０１ｕｇ／ｍｌ～約５ｕｇ／ｍｌの間、又は約０．０１ｕｇ／ｍｌ～約０．５ｕｇ／ｍｌの間、又は約０．０１ｕｇ／ｍｌ～約０．１ｕｇ／ｍｌの間、又は約５ｕｇ／ｍｌ未満、１ｕｇ／ｍｌ、０．５ｕｇ／ｍｌ、０．１ｕｇ／ｍｌ、又は０．０５ｕｇ／ｍｌのEC_{50}で、季節性Ｈ１Ｎ１及びＨ３Ｎ２ウイルスに結合する。

【００６４】

一実施形態では、抗体又はその抗原結合断片は、ＨＡ２のストーク領域内に位置するエ

ピトープを認識する。より特定の実施形態では、抗体又は抗原結合断片は、ＨＡ２の保存されたストーク領域内の立体構造エピトープに結合する。一実施形態では、エピトープは、接触残基として、ＨＡ２のストーク領域内の位置１８、１９、４２、４５（位置は、Ｗｅｉｓｓ　ｅｔ　ａｌ．，（１９９０）Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．２１２，７３７－７６１に記載のＨ３付番システムに従って付番される）から選択される１つ以上のアミノ酸を含む。より特定の実施形態では、エピトープは、接触残基として、ＨＡ２のストーク領域内の１８、１９、４２及び４５から選択される１つ以上のアミノ酸を含む。さらなる実施形態では、エピトープは、接触残基として、ＨＡ２のストーク領域内のアミノ酸１８、１９、４２及び４５を含む。さらなる実施形態では、エピトープは、接触残基として、ＨＡ２のストーク領域内のアミノ酸１８、１９、及び４２を含む。

【００６５】

一実施形態では、抗体又はその抗原結合断片は、ウイルスとエンドソーム膜との間のＨＡ媒介性融合にとって要求されるｐＨ誘発性の立体構造変化を阻害することにより、Ａ型インフルエンザの活性を中和する。別の実施形態では、抗体又はその抗原結合断片は、ＨＡ０タンパク質のＨＡ１及びＨＡ２サブユニットへのプロテアーゼ切断を阻害し、それにより融合ペプチドの接近性に干渉することにより、Ａ型インフルエンザの活性を中和する。別の実施形態では、抗体又はその抗原結合断片は、Ａ型インフルエンザウイルスの細胞－細胞間感染を阻害する。

【００６６】

他の実施形態では、抗体又は抗原結合断片は、Ａ型インフルエンザウイルス感染の活性を、ウイルスを排除することにより低減し得る。一実施形態では、抗体又は抗原結合断片は、例えば、ＡＤＣＣ、ＡＤＣＰ、及びＣＤＣを含む、１つ以上のＦｃエフェクター機能を介して、ウイルスを排除し得る。

【００６７】

一実施形態では、Ａ型インフルエンザウイルスに特異的に結合する抗体は、２０１３年１０月２日に出願された米国仮特許出願第６１／８８５，８０８号明細書、及び２０１４年５月２３日に出願された米国仮特許出願第６２／００２，４１４号明細書、及び２０１４年１０月１日に出願された国際出願第ＰＣＴ／ＵＳ２０１４／０５８６５２号パンフレットに記載されている。これら開示の各々は、ここでその全体が参照により本明細書中に援用される。

【００６８】

ＭＥＤＩ８８５２

一実施形態では、抗Ａ型インフルエンザ抗体は、インフルエンザＨＡタンパク質の保存されたストーク領域に結合し、広範なインフルエンザウイルスパネルに対して結合及び／又は中和する能力があるヒトＩｇＧ１κモノクローナル抗体（ｍＡｂ）のＭＥＤＩ８８５２を含む。

【００６９】

一実施形態では、抗体は、ＭＥＤＩ８８５２のＶＨ及び／又はＶＬ配列の少なくとも１つに対して少なくとも１つの列挙されるパーセント同一性を有するＶＨ及び／又はＶＬを含む。一実施形態では、抗体は、配列番号２のＶＨアミノ酸配列に対して少なくとも７５％、８０％、８５％、９０％、９５％又は１００％の同一性を有するＶＨアミノ酸配列を含む。別の実施形態では、抗体は、配列番号２のＶＨ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％又は１００％の同一性を有するＶＨアミノ酸配列を含む。別の実施形態では、抗体は、配列番号７のＶＬアミノ酸配列に対して少なくとも７５％、８０％、８５％、９０％、９５％又は１００％の同一性を有するＶＬアミノ酸配列を含む。別の実施形態では、抗体は、配列番号７のＶＬ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％又は１００％の同一性を有するＶＬアミノ酸配列を含む。一実施形態では、抗体は、配列番号２のＶＨアミノ酸配列に対して少なくとも７５％、８０％、８５％、９０％、９５％又は１００％の同一性を有するＶＨアミノ酸

配列及び配列番号７のＶＬアミノ酸配列に対して少なくとも７５％、８０％、８５％、９０％、９５％又は１００％の同一性を有するＶＬアミノ酸配列を含む。別の実施形態では、抗体は、配列番号２のＶＨ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％又は１００％の同一性を有するＶＨアミノ酸配列及び配列番号７のＶＬ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％又は１００％の同一性を有するＶＬアミノ酸配列を含む。

【００７０】

相補性決定領域（ＣＤＲ）

可変ドメイン（ＶＨ及びＶＬ）が抗原結合領域を含む一方で、その可変性は、抗体の可変ドメインをわたり均等に分布しているわけではない。可変性は、軽鎖（ＶＬ又はＶＫ）及び重鎖（ＶＨ）可変ドメインの双方で相補性決定領域（ＣＤＲ）と称される区間に集中している。可変ドメインの中でより高度に保存されている部分は、フレームワーク領域（ＦＲ）と呼ばれる。天然の重鎖及び軽鎖の可変ドメインは各々、主としてβシート構成をとる、３つのＣＤＲで接続された４つのＦＲを含み、ＣＤＲが形成するループがこのβシート構造を接続し、ある場合にはβシート構造の一部を形成する。各鎖のＣＤＲは、ＦＲによって近接して一体に保持され、他方の鎖のＣＤＲとともに抗体の抗原結合部位の形成に寄与する。重鎖の３つのＣＤＲは、ＨＣＤＲ１、ＨＣＤＲ２、及びＨＣＤＲ３と命名され、軽鎖の３つのＣＤＲは、ＬＣＤＲ１、ＬＣＤＲ２、及びＬＣＤＲ３と命名される。Ｋａｂａｔ付番システムを使用して、ＨＣＤＲ１は、大体アミノ酸３１（すなわち、１番目のシステイン残基の後から約９残基目）で始まり、約５～７のアミノ酸を含み、且つ次のチロシン残基で終結する。ＨＣＤＲ２は、ＨＣＤＲ１の末端の後から１５番目の残基で始まり、約１６～１９のアミノ酸を含み、且つ次のアルギニン又はリジン残基で終結する。ＨＣＤＲ３は、ＨＣＤＲ２の末端の後から約３３番目のアミノ酸残基で始まり、３～２５のアミノ酸を含み、且つ配列Ｗ－Ｇ－Ｘ－Ｇ（式中、Ｘは任意のアミノ酸である）で終結する。ＬＣＤＲ１は、大体残基２４（すなわち、システイン残基の後）で始まり、約１０～１７の残基を含み、且つ次のチロシン残基で終結する。ＬＣＤＲ２は、ＬＣＤＲ１の末端の後から約１６番目の残基で始まり、約７つの残基を含む。ＬＣＤＲ３は、ＬＣＤＲ２の末端の後から約３３番目の残基で始まり；約７～１１の残基を含み、且つ配列Ｆ－Ｇ－Ｘ－Ｇ（式中、Ｘは任意のアミノ酸である）で終結する。ＣＤＲが抗体と抗体の間でかなり異なり、また定義によると、Ｋａｂａｔ共通配列との相同性を呈することはない。

【００７１】

一実施形態では、抗Ａ型インフルエンザ抗体は、ＨＣＤＲ１（配列番号３）、ＨＣＤＲ２（配列番号４）、及びＨＣＤＲ３（配列番号５）から選択される重鎖ＣＤＲに対して少なくとも７５％、８０％、８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％又は１００％の同一性を有する１つ以上の重鎖ＣＤＲを含む。別の実施形態では、抗Ａ型インフルエンザ抗体は、ＬＣＤＲ１（配列番号８）、ＬＣＤＲ１（配列番号９）、及びＬＣＤＲ１（配列番号１０）から選択される軽鎖ＣＤＲに対して少なくとも７５％、８０％、８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％又は１００％の同一性を有する１つ以上の軽鎖ＣＤＲを含む。一実施形態では、抗Ａ型インフルエンザ抗体は、ＨＣＤＲ１（配列番号３）、ＨＣＤＲ２（配列番号４）、及びＨＣＤＲ３（配列番号５）から選択される重鎖ＣＤＲに対して少なくとも７５％、８０％、８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％又は１００％の同一性を有する１つ以上の重鎖ＣＤＲ、並びにＬＣＤＲ１（配列番号８）、ＬＣＤＲ１（配列番号９）、及びＬＣＤＲ１（配列番号１０）から選択される軽鎖ＣＤＲに対して少なくとも７５％、８０％、８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％又は１００％の同一性を有する１つ以上の軽鎖ＣＤＲを含む。

【００７２】

フレームワーク領域

重鎖及び軽鎖の可変ドメインは各々、可変ドメインの最も高度に保存された部分である４つのフレームワーク領域（ＦＲ１、ＦＲ２、ＦＲ３、ＦＲ４）を含む。重鎖の４つのＦＲは、ＦＲ－Ｈ１、ＦＲ－Ｈ２、ＦＲ－Ｈ３及びＦＲ－Ｈ４と命名され、軽鎖の４つのＦＲは、ＦＲ－Ｌ１、ＦＲ－Ｌ２、ＦＲ－Ｌ３及びＦＲ－Ｌ４と命名される。Ｋａｂａｔ付番システムを使用して、ＦＲ－Ｈ１は、位置１で始まり、大体アミノ酸３０で終結し、ＦＲ－Ｈ２は、大体アミノ酸３６～４９であり、ＦＲ－Ｈ３は大体アミノ酸６６～９４であり、ＦＲ－Ｈ４は、大体アミノ酸１０３～１１３である。ＦＲ－Ｌ１は、アミノ酸１で始まり、大体アミノ酸２３で終結し、ＦＲ－Ｌ２は、大体アミノ酸３５～４９であり、ＦＲ－Ｌ３は、大体アミノ酸５７～８８であり、ＦＲ－Ｌ４は、大体アミノ酸９８～１０７である。特定の実施形態では、フレームワーク領域は、Ｋａｂａｔ付番システムに従う置換、例えば、ＦＲ－Ｌ１における１０６Ａでの挿入を含んでもよい。

【００７３】

抗体のＡ型インフルエンザウイルスに対する結合親和性を改善又は最適化するため、天然置換に加えて、１つ以上の改変、例えばＦＲ残基の１つ以上の置換が抗体中にさらに導入されてもよい。修飾すべきフレームワーク領域残基の例として、抗原に非共有結合的に直接結合するもの（Ａｍｉｔ　ｅｔ　ａｌ．，（１９８６）　Ｓｃｉｅｎｃｅ，２３３：７４７－７５３）；ＣＤＲの立体構造に対して相互作用／影響するもの（Ｃｈｏｔｈｉａ　ｅｔ　ａｌ．，（１９８７）　Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．，１９６：９０１－９１７）；及び／又はＶＬ－ＶＨ界面に関与するもの（米国特許第５，２２５，５３９号明細書）が挙げられる。

【００７４】

ＣＤＲ領域内の突然変異が親和性及び機能を改善し得る一方で、フレームワーク領域内の突然変異は免疫原性のリスクを増加させ得る。このリスクは、抗体の活性に悪影響を及ぼすことなく、フレームワーク突然変異を生殖系列に戻すことにより低下され得る。一実施形態では、「生殖系列化（ｇｅｒｍｌｉｎｉｎｇ）」を目的として、ＦＲは１つ以上のアミノ酸変化を含んでもよい。生殖系列化では、選択された抗体の重鎖及び軽鎖のアミノ酸配列は、生殖系列の重鎖及び軽鎖アミノ酸配列と比較され、生殖系列の立体配置と異なる選択されたＶＬ及び／又はＶＨ鎖の特定のフレームワーク残基は、生殖系列の立体配置に「復帰突然変異」され、フレームワークアミノ酸配列は、生殖系列フレームワークアミノ酸配列と同じに戻るように変化される。フレームワーク残基のかかる「復帰突然変異」又は「生殖系列化」は、限定はされないが、部位特異的変異誘発及びＰＣＲ介在性突然変異誘発を含む、特定の突然変異を導入するための標準的な分子生物学的方法により達成され得る。

【００７５】

ヌクレオチド配列

別の実施形態では、アミノ酸配列に対応し、本明細書に記載の抗体をコードするヌクレオチド配列が提供される。従って、本明細書に記載の抗体のＣＤＲ及びＦＲを含む、ＶＨ及びＶＬ領域をコードするポリヌクレオチド配列、並びに細胞内でのその効率的発現のための発現ベクターが提供される。

【００７６】

一実施形態では、ポリヌクレオチドは、配列番号２のＶＨアミノ酸配列に対して少なくとも７５％、８０％、８５％、９０％、９５％又は１００％の同一性を有するＶＨアミノ酸配列をコードする。別の実施形態では、ポリヌクレオチドは、配列番号２のＶＨ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％又は１００％の同一性を有するＶＨアミノ酸配列を含む。一実施形態では、ポリヌクレオチドは、配列番号１の核酸配列に対して少なくとも７５％、８０％、８５％、９０％、９５％又は１００％の同一性を有する核酸配列を有する。別の実施形態では、ポリヌクレオチドは、配列番号１の核酸配列に対して少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％又は１００％の同一性を有する核酸配列を有する。

【００７７】
別の実施形態では、ポリヌクレオチドは、配列番号７のＶＬアミノ酸配列に対して少なくとも７５％、８０％、８５％、９０％、９５％又は１００％の同一性を有するＶＬアミノ酸配列をコードする。別の実施形態では、ポリヌクレオチドは、配列番号７のＶＬ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％又は１００％の同一性を有するＶＬアミノ酸配列をコードする。一実施形態では、ポリヌクレオチドは、配列番号６の核酸配列に対して少なくとも７５％、８０％、８５％、９０％、９５％又は１００％の同一性を有する核酸配列を有する。別の実施形態では、ポリヌクレオチドは、配列番号６の核酸配列に対して少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％又は１００％の同一性を有する核酸配列を有する。

【００７８】
一実施形態では、ポリヌクレオチドは、配列番号２のＶＨアミノ酸配列に対して少なくとも７５％、８０％、８５％、９０％、９５％又は１００％の同一性を有するＶＨアミノ酸配列及び配列番号７のＶＬアミノ酸配列に対して少なくとも７５％、８０％、８５％、９０％、９５％又は１００％の同一性を有するＶＬアミノ酸配列をコードする。別の実施形態では、ポリヌクレオチドは、配列番号２のＶＨ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％又は１００％の同一性を有するＶＨアミノ酸配列及び配列番号７のＶＬ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％又は１００％の同一性を含む。

【００７９】
本発明はまた、本明細書に記載の抗体又はその抗原結合断片をコードするポリヌクレオチドに対して、本明細書で定義される通り、ストリンジェントな又はより低いストリンジェンシーのハイブリダイゼーション条件下でハイブリダイズするポリヌクレオチドを包含する。

【００８０】
ストリンジェントなハイブリダイゼーション条件としては、限定はされないが、６×塩化ナトリウム／クエン酸ナトリウム（ＳＳＣ）中約４５℃でのフィルタに結合したＤＮＡとのハイブリダイゼーションと、続く０．２×ＳＳＣ／０．１％ＳＤＳ中約５０～６５℃での１回以上の洗浄、高度にストリンジェントな条件、例えば６×ＳＳＣ中約４５℃でのフィルタに結合したＤＮＡとのハイブリダイゼーションと、続く０．１×ＳＳＣ／０．２％ＳＤＳ中約６５℃での１回以上の洗浄、又は当業者に公知の任意の他のストリンジェントなハイブリダイゼーション条件（例えば、Ａｕｓｕｂｅｌ，Ｆ．Ｍ．ｅｔ　ａｌ．，ｅｄｓ．（１９８９）Ｃｕｒｒｅｎｔ　Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ　ｉｎ　Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｂｉｏｌｏｇｙ，ｖｏｌ．１，Ｇｒｅｅｎ　Ｐｕｂｌｉｓｈｉｎｇ　Ａｓｓｏｃｉａｔｅｓ，Ｉｎｃ．ａｎｄ　Ｊｏｈｎ　Ｗｉｌｅｙ　ａｎｄ　Ｓｏｎｓ，Ｉｎｃ．，ＮＹの６．３．１～６．３．６頁及び２．１０．３頁を参照のこと）が挙げられる。

【００８１】
実質的に同一な配列は、多形配列（すなわち、集団内の代替配列又は対立遺伝子）を含む。対立遺伝子の差異は、１つの塩基対と同程度に小さくてもよい。実質的に同一な配列はまた、サイレント突然変異を含む配列を含む、変異誘発された配列を含んでもよい。突然変異は、１つ以上の残基の変化、１つ以上の残基の欠失、又は１つ以上のさらなる残基の挿入を含んでもよい。

【００８２】
当該技術分野で公知の任意の方法により、ポリヌクレオチドを得て、ポリヌクレオチドのヌクレオチド配列を決定してもよい。例えば、抗体のヌクレオチド配列が公知である場合、抗体をコードするポリヌクレオチドは、化学合成されたオリゴヌクレオチドから構築されてもよい（例えば、Ｋｕｔｍｅｉｅｒ　ｅｔ　ａｌ．，（１９９４）　ＢｉｏＴｅｃｈｎｉｑｕｅｓ　１７：２４２を参照）。簡潔に述べると、抗体をコードする配列の一部

を含有するオーバーラップオリゴヌクレオチドは、合成、アニール、ライゲート、次いでＰＣＲにより増幅される。

【００８３】

抗体をコードするポリヌクレオチドはまた、好適な供給源由来の核酸から作成してもよい。特定の抗体をコードする核酸を含むクローンが入手できないが、抗体分子の配列が公知である場合、免疫グロブリンをコードする核酸は、化学的に合成するか、或いは、好適な供給源、例えば、抗体ｃＤＮＡライブラリ、又は、抗体を発現する任意の組織若しくは細胞、例えば抗体を発現するために選択されるハイブリドーマ細胞から作成されるｃＤＮＡライブラリ、又はそれから単離される核酸、例えばポリＡ＋ＲＮＡから、例えば、配列の３’及び５’末端にハイブリダイズ可能な合成プライマーを用いるＰＣＲ増幅により、又は特定の遺伝子配列に特異的なオリゴヌクレオチドプローブを用いるクローニングし、抗体をコードするｃＤＮＡライブラリからｃＤＮＡクローンを同定することにより、入手してもよい。次に、ＰＣＲによって生成される増幅核酸は、当該技術分野で周知の任意の方法を用いて、複製可能なクローニングベクターにクローニングすることができる。

【００８４】

一旦抗体のヌクレオチド配列及び対応するアミノ酸配列が決定されると、抗体のヌクレオチド配列は、限定はされないが、組換えＤＮＡ技術、部位特異的突然変異誘発、及びＰＣＲを含む当該技術分野で公知の方法を用いて操作することで、異なるアミノ酸配列を有する抗体を作製し、例えばアミノ酸の置換、欠失、及び／又は挿入を作出してもよい（例えば、Ｓａｍｂｒｏｏｋ ｅｔ ａｌ．，（１９９０）、Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｃｌｏｎｉｎｇ，Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ，２ｄ Ｅｄ．，Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ，Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ，Ｎ．Ｙ．及びＡｕｓｕｂｅｌ ｅｔ ａｌ．，ｅｄｓ．，（１９９８） Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ，Ｊｏｈｎ Ｗｉｌｅｙ ＆ Ｓｏｎｓ，ＮＹに記載される技術を参照）。

【００８５】

結合特性

上記の通り、抗Ａ型インフルエンザ抗体又はその抗原結合断片は、Ａ型インフルエンザウイルスの少なくとも１つの特定のエピトープ又は抗原決定基に免疫特異的に結合する。さらなる特定の実施形態では、抗Ａ型インフルエンザ抗体又はその抗原結合断片は、Ａ型インフルエンザウイルスのＨＡストークタンパク質、ペプチド、サブユニット、断片、部分又はその任意の組み合わせの少なくとも１つの特定のエピトープ又は抗原決定基に、他のポリペプチドに関しては排他的又は優先的に結合する。

【００８６】

結合アッセイは、抗体の結合特性を測定するために実施され得、限定はされないが、直接結合アッセイ又は競合結合アッセイを含む。一実施形態では、結合は、標準ＥＬＩＳＡ又はフローサイトメトリーアッセイを用いて検出され得る。直接結合アッセイでは、候補抗体がその同族抗原への結合について試験される。競合結合アッセイでは、候補抗体の、Ａ型インフルエンザウイルスのＨＡストークに結合する公知の抗体又は他の化合物と競合する能力が評価される。一般に、抗体の検出可能なＡ型インフルエンザウイルスのＨＡストークとの結合を可能にする任意の方法は、抗体の結合特性を検出及び測定するために用いることができる。

【００８７】

抗原と抗体との間の結合の親和性定数及び特異性を測定することは、抗体又はその断片を用いて、予防、治療、診断及び研究方法の有効性を確認するのに有益であり得る。「結合親和性」は、一般に、分子（例えば抗体）の単一の結合部位とのその結合パートナー（例えば抗原）との間の非共有的相互作用の合計の強さを指す。特に指定されない限り、本明細書で用いられるとき、「結合親和性」は、結合ペアのメンバー間（例えば、抗体と抗原）の１：１相互作用を反映する内因性結合親和性を指す。分子Ｘのそのパートナー Ｙに対する親和性は、一般にk_{off}/k_{on}比として計算される平衡解離定数（Ｋｄ）によ

って表すことができる（Ｃｈｅｎ ｅｔ ａｌ．，（１９９９） Ｊ．Ｍｏｌ Ｂｉｏｌ ２９３：８６５－８８１を参照）。低親和性抗体は、一般に抗原に緩徐に結合し、容易に解離する傾向がある一方で、高親和性抗体は、一般に抗原により迅速に結合し、結合状態をより長く維持する傾向がある。本発明の抗体の結合特性の判定に適した方法及び試薬は、当該技術分野で公知であり、及び／又は市販されている（例えば、米国特許第６，８４９，４２５号明細書；同第６，６３２，９２６号明細書；同第６，２９４，３９１号明細書；同第６，１４３，５７４号明細書を参照のこと）。さらに、かかる動力学分析のために設計された機器及びソフトウェアは市販されている（例えば、Ｂｉａｃｏｒｅ（登録商標）Ａ１００、及びＢｉａｃｏｒｅ（登録商標）２０００機器；Ｂｉａｃｏｒｅ Ｉｎｔｅｒｎａｔｉｏｎａｌ ＡＢ，Ｕｐｐｓａｌａ，Ｓｗｅｄｅｎ）。

【００８８】

一実施形態では、本発明の抗体（その結合断片又は変異体を含む）はまた、そのＡ型インフルエンザウイルスに対する結合親和性の観点から説明又は特定され得る。典型的には、高い親和性を有する抗体は、10^{-7}Ｍ未満のＫｄを有する。一実施形態では、抗体又はその結合断片は、Ａ型インフルエンザウイルス、又はその断片若しくは変異体に、5×10^{-7}Ｍ以下、10^{-7}Ｍ、5×10^{-8}Ｍ、10^{-8}Ｍ、5×10^{-9}Ｍ、10^{-9}Ｍ、5×10^{-10}Ｍ、10^{-10}Ｍ、5×10^{-11}Ｍ、10^{-11}Ｍ、5×10^{-12}Ｍ、10^{-12}Ｍ、5×10^{-13}Ｍ、10^{-13}Ｍ、5×10^{-14}Ｍ、10^{-14}Ｍ、5×10^{-15}Ｍ又は10^{-15}Ｍの解離定数すなわちＫｄで結合する。さらなる特定の実施形態では、抗体又はその結合断片は、Ａ型インフルエンザウイルス、又はその断片若しくは変異体に、5×10^{-10}Ｍ以下、10^{-10}Ｍ、5×10^{-11}Ｍ、10^{-11}Ｍ、5×10^{-12}Ｍ又は10^{-12}Ｍの解離定数すなわちＫｄで結合する。本発明は、Ａ型インフルエンザウイルスに、個別の列挙された値のいずれかの間の範囲内に含まれる解離定数すなわちＫｄで結合する抗体を包含する。

【００８９】

別の実施形態では、抗体又はその結合断片は、Ａ型インフルエンザウイルス又はその断片若しくは変異体に、5×10^{-2}秒$^{-1}$、10^{-2}秒$^{-1}$、5×10^{-3}秒$^{-1}$又は10^{-3}秒$^{-1}$、5×10^{-4}秒$^{-1}$、10^{-4}秒$^{-1}$、5×10^{-5}秒$^{-1}$、又は10^{-5}秒$^{-1}$、5×10^{-6}秒$^{-1}$、10^{-6}秒$^{-1}$、5×10^{-7}秒$^{-1}$又は10^{-7}秒$^{-1}$以下のオフ速度（k_{off}）で結合する。より特定の実施形態では、抗体又はその結合断片は、Ａ型インフルエンザウイルス又はその断片若しくは変異体に、5×10^{-4}秒$^{-1}$、10^{-4}秒$^{-1}$、5×10^{-5}秒$^{-1}$、又は10^{-5}秒$^{-1}$、5×10^{-6}秒$^{-1}$、10^{-6}秒$^{-1}$、5×10^{-7}秒$^{-1}$又は10^{-7}秒$^{-1}$以下のオフ速度（k_{off}）で結合する。本発明はまた、Ａ型インフルエンザウイルスに、個別の列挙された値のいずれかの間の範囲内に含まれるオフ速度（k_{off}）で結合する抗体を包含する。

【００９０】

別の実施形態では、抗体又はその結合断片は、Ａ型インフルエンザウイルス又はその断片若しくは変異体に、10^{3}Ｍ$^{-1}$秒$^{-1}$、5×10^{3}Ｍ$^{-1}$秒$^{-1}$、10^{4}Ｍ$^{-1}$秒$^{-1}$、5×10^{4}Ｍ$^{-1}$秒$^{-1}$、10^{5}Ｍ$^{-1}$秒$^{-1}$、5×10^{5}Ｍ$^{-1}$秒$^{-1}$、10^{6}Ｍ$^{-1}$秒$^{-1}$、5×10^{6}Ｍ$^{-1}$秒$^{-1}$、10^{7}Ｍ$^{-1}$秒$^{-1}$、又は5×10^{7}Ｍ$^{-1}$秒$^{-1}$以上のオン速度（k_{on}）で結合する。より特定の実施形態では、抗体又はその結合断片は、Ａ型インフルエンザウイルス又はその断片若しくは変異体に、10^{5}Ｍ$^{-1}$秒$^{-1}$、5×10^{5}Ｍ$^{-1}$秒$^{-1}$、10^{6}Ｍ$^{-1}$秒$^{-1}$、5×10^{6}Ｍ$^{-1}$秒$^{-1}$、10^{7}Ｍ$^{-1}$秒$^{-1}$又は5×10^{7}Ｍ$^{-1}$秒$^{-1}$以上のオン速度（k_{on}）で結合する。本発明は、Ａ型インフルエンザウイルスに、個別の列挙された値のいずれかの間の範囲内に含まれるオン速度（k_{on}）で結合する抗体を包含する。

【００９１】

一実施形態では、抗体又はその抗原結合断片は、Ａ型インフルエンザウイルスのＨＡストークに免疫特異的に結合し、Ａ型インフルエンザウイルス感染を中和する能力がある。中和アッセイは、当該技術分野で公知の方法を用いて実施され得る。用語「阻害濃度５０

%」（「IC_{50}」と略記される）は、Ａ型インフルエンザウイルスの５０％中和に要求される阻害剤（例えば抗体）の濃度を表す。より低いIC_{50}値がより強力な阻害剤に対応することは当業者により理解されるであろう。

【００９２】

一実施形態では、本発明に記載の抗体又はその抗原結合断片は、マイクロ中和アッセイでのＡ型インフルエンザウイルスの中和における、約０．０１ｕｇ／ｍｌ～約５０ｕｇ／ｍｌの範囲内、又は抗体の約０．０１ｕｇ／ｍｌ～約５ｕｇ／ｍｌの範囲内、又は抗体の約０．０１ｕｇ／ｍｌ～約０．１ｕｇ／ｍｌの範囲内での５０％阻害濃度（IC_{50}ｕｇ／ｍｌ）として表される中和能力を有する。

【００９３】

特定の実施形態では、本明細書に記載の抗体は、細胞死を誘導し得る。「細胞死を誘導する」抗体又はその抗原結合断片は、生細胞が生育不能になる原因となるものである。一実施形態では、本明細書に記載の抗体又はその断片は、ＡＤＣＣ、ＣＤＣ、及び／又はＡＤＣＰを介して細胞死を誘導し得る。ＡＤＣＣ、ＣＤＣ及びＡＤＣＰを測定するためのアッセイは公知である。

【００９４】

一実施形態では、抗体又はその断片は、アポトーシスを介して細胞死を誘導する。「アポトーシスを誘導する」抗体又はその断片は、アネキシンＶの結合、ＤＮＡの断片化、細胞収縮、小胞体の拡大、細胞断片化、及び／又は膜小胞（アポトーシス体と称される）の形成によって判定されるようなプログラム細胞死を誘導するものである。アポトーシスに関連した細胞事象を評価するため、様々な方法が利用可能である。例えば、ホスファチジルセリン（ＰＳ）転座は、アネキシン結合によって測定され得；ＤＮＡ断片化は、ＤＮＡラダリングを通じて評価され得；またＤＮＡ断片化に伴う核／クロマチン縮合は、低二倍体細胞における任意の増加により評価され得る。

【００９５】

抗体の産生

以下に、本明細書に記載のような抗体及びその断片の産生のための技術を説明する。

【００９６】

モノクローナル抗体

モノクローナル抗体は、ハイブリドーマの使用（Ｋｏｈｌｅｒ ｅｔ ａｌ．，（１９７５）Ｎａｔｕｒｅ，２５６：４９５；Ｈａｒｌｏｗ ｅｔ ａｌ．，（１９８８）Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ：Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ（Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｐｒｅｓｓ，２ｎｄ ｅｄ．）；Ｈａｍｍｅｒｌｉｎｇ，ｅｔ ａｌ．，（１９８１）：Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ ａｎｄ Ｔ－Ｃｅｌｌ Ｈｙｂｒｉｄｏｍａｓ ５６３－６８１（Ｅｌｓｅｖｉｅｒ，Ｎ．Ｙ．）、組換え技術、及びファージディスプレイ技術、又はそれらの組み合わせを含めた、当該技術分野において公知の幅広い技術を用いて調製することができる。用語「モノクローナル抗体」は、本明細書で使用されるとき、実質的に同種の抗体又は単離抗体の集団から得られる抗体を指し、ここで、その集団を構成する個別の抗体が、少量存在し得る天然に存在する可能な突然変異を除いては同一である。モノクローナル抗体は高度に特異的であり、且つ単一の抗原部位を標的とする。さらに、異なる決定基（エピトープ）を標的とする異なる抗体を含むポリクローナル抗体製剤と対照的に、各モノクローナル抗体が抗原上の同じ決定基を標的とする。その特異性に加え、モノクローナル抗体は、他の抗体による汚染なしに合成され得る点で有利である。修飾語「モノクローナル」は、任意の特定の方法による抗体の産生を必要とするものと解釈されるべきではない。以下はモノクローナル抗体の代表的な産生方法の説明であり（この説明は限定することを意図するものではない）、例えばモノクローナル哺乳類抗体、キメラ抗体、ヒト化抗体、ヒト抗体、ドメイン、ダイアボディ、ワクチボディ、線状抗体及び多重特異性抗体の産生に用いることができる。

【００９７】

ハイブリドーマ技法

ハイブリドーマ技術を用いた特異的抗体の産生及びスクリーニング方法は、当該技術分野においてルーチンであり、周知されている。ハイブリドーマ法では、マウス又は他の適切な宿主動物、例えばハムスターを免疫して、免疫化に用いた抗原に特異的に結合し得る抗体を産生する又はその産生能を有するリンパ球を誘導する。或いは、インビトロでリンパ球を免疫してもよい。免疫後、リンパ球を単離し、次に好適な融剤又は融合パートナー、例えばポリエチレングリコールを使用して骨髄腫細胞株と融合することにより、ハイブリドーマ細胞を形成する（Ｇｏｄｉｎｇ，（１９８６）Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ：Ｐｒｉｎｃｉｐｌｅｓ ａｎｄ Ｐｒａｃｔｉｃｅ，ｐｐ．５９－１０３（Ａｃａｄｅｍｉｃ Ｐｒｅｓｓ））。特定の実施形態では、選択される骨髄腫細胞は、効率的に融合し、選択された抗体産生細胞による安定した高度な抗体産生を支持し、且つ融合しなかった親細胞を選択外にする選択培地に対して感受性を有するものである。一態様において、骨髄腫細胞株はマウス骨髄腫株、例えば、ソーク研究所細胞頒布センター（Ｓａｌｋ Ｉｎｓｔｉｔｕｔｅ Ｃｅｌｌ Ｄｉｓｔｒｉｂｕｔｉｏｎ Ｃｅｎｔｅｒ），Ｓａｎ Ｄｉｅｇｏ，Ｃａｌｉｆ．ＵＳＡから入手可能なＭＯＰＣ－２１及びＭＰＣ－１１マウス腫瘍に由来するもの、並びにアメリカン・タイプ・カルチャー・コレクション（Ａｍｅｒｉｃａｎ Ｔｙｐｅ Ｃｕｌｔｕｒｅ Ｃｏｌｌｅｃｔｉｏｎ），Ｒｏｃｋｖｉｌｌｅ，Ｍｄ．ＵＳＡから入手可能なＳＰ－２及び誘導体、例えばＸ６３－Ａｇ８－６５３細胞である。ヒト骨髄腫及びマウス－ヒト異種骨髄腫細胞株もまた、ヒトモノクローナル抗体の産生について記載されている（Ｋｏｚｂｏｒ，Ｊ．（１９８４）Ｉｍｍｕｎｏｌ．，１３３：３００１；及びＢｒｏｄｅｕｒ ｅｔ ａｌ．，（１９８７）Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ Ａｎｔｉｂｏｄｙ Ｐｒｏｄｕｃｔｉｏｎ Ｔｅｃｈｎｉｑｕｅｓ ａｎｄ Ａｐｐｌｉｃａｔｉｏｎｓ，ｐｐ．５１－６３（Ｍａｒｃｅｌ Ｄｅｋｋｅｒ，Ｉｎｃ．，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ））。

【００９８】

所望の特異性、親和性、及び／又は活性の抗体を産生するハイブリドーマ細胞が同定されると、クローンを限界希釈手順によりサブクローニングし、標準方法により成長させることができる。この目的に好適な培養培地としては、例えば、Ｄ－ＭＥＭ又はＲＰＭＩ－１６４０培地が挙げられる。加えて、ハイブリドーマ細胞は、例えば細胞をマウスに腹腔内注射することにより、動物において腹水腫瘍としてインビボで成長させてもよい。

【００９９】

サブクローンにより選択されたモノクローナル抗体は、アフィニティークロマトグラフィー（例えば、プロテインＡ又はプロテインＧセファロース）又はイオン交換クロマトグラフィー、アフィニティータグ、ヒドロキシルアパタイトクロマトグラフィー、ゲル電気泳動、及び透析を含むがこれらに限定されない従来の抗体精製手順によって培養培地、腹水、又は血清と分離することができる。

【０１００】

組換えＤＮＡ技法

組換えＤＮＡ技術を用いて特異的抗体を産生及びスクリーニングするための方法は、日常的で当該技術分野で周知である。モノクローナル抗体又はその断片をコードするＤＮＡは、通常の手順を用いて容易に単離及び／又は配列決定され得る。一旦単離されると、ＤＮＡは発現ベクター中に挿入されてもよく、それは宿主細胞、例えば、大腸菌（Ｅ．Ｃｏｌｉ）細胞、サルＣＯＳ細胞、チャイニーズハムスター卵巣（ＣＨＯ）細胞、又は別の状況であれば抗体タンパク質を産生しない骨髄腫細胞に遺伝子導入され、組換え宿主細胞においてモノクローナル抗体の合成を得ることができる。

【０１０１】

抗体又はその変異体の組換え発現は、一般に、抗体をコードするポリヌクレオチドを含有する発現ベクターの構築を必要とする。従って、本明細書に提供されるのは、プロモーターに作動可能に連結された、抗体分子、抗体の重鎖若しくは軽鎖、抗体の重鎖若しくは軽鎖可変ドメイン又はその一部、又は重鎖若しくは軽鎖ＣＤＲをコードするヌクレオチド

配列を含む複製可能なベクターである。かかるベクターは、抗体分子の定常領域をコードするヌクレオチド配列を含んでもよく、また抗体の可変ドメインは、全重鎖、全軽鎖、又は全重鎖及び全軽鎖の双方の発現のため、かかるベクターにクローン化されてもよい。

【０１０２】

一旦発現ベクターが通常の技術により宿主細胞に導入されると、抗体を産生するため、トランスフェクト細胞は通常の技術により培養され得る。従って、本明細書に提供されるのは、異種プロモーターに作動可能に連結された、本明細書に記載の抗体又はその断片、又はその重鎖若しくは軽鎖、又はその一部、又は一本鎖抗体をコードするポリヌクレオチドを含有する宿主細胞である。二重鎖抗体の発現についての特定の実施形態では、重鎖及び軽鎖の双方をコードするベクターは、全免疫グロブリン分子の発現のため、宿主細胞内で同時発現されてもよい。

【０１０３】

組換え抗体の発現用宿主として利用可能な哺乳類細胞株は、当該技術分野において周知されており、アメリカン・タイプ・カルチャー・コレクション（Ａｍｅｒｉｃａｎ　Ｔｙｐｅ　Ｃｕｌｔｕｒｅ　Ｃｏｌｌｅｃｔｉｏｎ：ＡＴＣＣ）から入手可能な多くの不死化細胞株、限定はされないが、チャイニーズハムスター卵巣（ＣＨＯ）細胞、ヒーラー細胞、ベビーハムスター腎（ＢＨＫ）細胞、サル腎細胞（ＣＯＳ）、ヒト肝細胞癌細胞（例えば、Ｈｅｐ　Ｇ２）、ヒト上皮腎２９３細胞、及び数多くの他の細胞株が挙げられる。異なる宿主細胞は、タンパク質及び遺伝子産物の翻訳後プロセシング及び修飾について特徴的で特異的な機構を有する。発現させた抗体又はその一部分の正しい修飾及びプロセシングが確実となるように、適切な細胞株又は宿主系を選択することができる。このため、適切な一次転写物のプロセシング、遺伝子産物のグリコシル化及びリン酸化のための細胞機構を有する真核生物宿主細胞が用いられ得る。かかる哺乳類宿主細胞としては、限定はされないが、ＣＨＯ、ＶＥＲＹ、ＢＨＫ、ヒーラー、ＣＯＳ、ＭＤＣＫ、２９３、３Ｔ３、Ｗ１３８、ＢＴ４８３、Ｈｓ５７８Ｔ、ＨＴＢ２、ＢＴ２Ｏ及びＴ４７Ｄ、ＮＳ０（いかなる機能性免疫グロブリン鎖も内因的に産生しないマウス骨髄腫細胞株）、ＳＰ２０、ＣＲＬ７Ｏ３Ｏ及びＨｓＳ７８Ｂｓｔ細胞が挙げられる。ヒトリンパ球を不死化することにより開発されたヒト細胞株を使用してモノクローナル抗体を組換え産生することができる。ヒト細胞株ＰＥＲ．Ｃ６．（Ｃｒｕｃｅｌｌ，オランダ）を使用してモノクローナル抗体を組換え産生することができる。

【０１０４】

組換え抗体の発現用宿主として用いられ得るさらなる細胞株としては、限定はされないが、昆虫細胞（例えばＳｆ２１／Ｓｆ９、イラクサギンウワバ（Ｔｒｉｃｈｏｐｌｕｓｉａ　ｎｉ）Ｂｔｉ－Ｔｎ５ｂ１－４）又は酵母細胞（例えばＳ．セレビシエ（Ｓ．ｃｅｒｅｖｉｓｉａｅ）、ピキア属（Ｐｉｃｈｉａ）、米国特許第７３２６６８１号明細書；他）、植物細胞；及びニワトリ細胞が挙げられる。

【０１０５】

特定の実施形態では、本明細書に記載の抗体及びその断片は、細胞株中で安定的に発現され得る。安定的発現は、組換えタンパク質の長期の高収率産生のために用いることができる。宿主細胞は、限定はされないが、プロモーター、エンハンサー、転写ターミネーター、及びポリアデニル化部位、及び選択可能マーカー遺伝子を含む発現制御エレメントを含む適切に設計されたベクターで形質転換され得る。外来ＤＮＡの導入後、細胞を１～２日間強化培地で成長させてもよく、次に選択培地に切り換える。組換えプラスミドにおける選択可能なマーカーが選択に対する耐性を付与し、プラスミドをその染色体に安定的に組み込んだ細胞の成長及びフォーカスの形成を可能にすることで、次にはそのフォーカスをクローニングし、細胞株へと拡大することができる。安定細胞株を高収率で作製する方法は当該技術分野において周知されており、概して試薬が市販されている。

【０１０６】

特定の実施形態では、本明細書に記載の抗体及びその断片は、一時的に細胞株で発現させる。一過性トランスフェクションは、細胞に導入された核酸が当該細胞のゲノム又は染

色体ＤＮＡに組み込まれないプロセスである。それは実際、染色体外要素、例えばエピソームとして細胞に維持される。エピソームの核酸の転写プロセスは影響を受けず、エピソームの核酸によりコードされるタンパク質が産生される。

【０１０７】

細胞株は、安定的にトランスフェクトされるものも、或いは一時的にトランスフェクトされるものも、モノクローナル抗体の発現及び産生のための当該技術分野において公知の細胞培養培地及び条件に維持される。特定の実施形態では、哺乳類細胞培養培地は、例えばＤＭＥＭ又はＨａｍ　Ｆ１２を含む市販の培地製剤をベースとする。他の実施形態では、細胞培養培地は、細胞成長及び生物学的タンパク質発現の両方の増加を支援するように修飾される。本明細書で使用されるとき、用語「細胞培養培地」、「培養培地」、及び「培地製剤」は、多細胞生物又は組織の外部の人工インビトロ環境で細胞を維持し、成長させ、増殖させ、又は拡大するための栄養溶液を指す。細胞培養培地は、例えば、細胞の成長を促進するように配合された細胞培養成長培地、又は組換えタンパク質産生を促進するように配合された細胞培養産生培地を含め、特定の細胞培養用途に改変され得る。用語の栄養素、成分、及び構成成分は、本明細書では、細胞培養培地を構成する構成物を指して同義的に使用される。

【０１０８】

一実施形態では、細胞株は流加法を用いて維持される。本明細書で使用されるとき、「流加法」は、初めに基礎培地でインキュベートされた後、流加細胞培養物にさらなる栄養素が供給される方法を指す。例えば、流加法は、所与の時間内に所定の補給スケジュールに従い補足培地を添加することを含み得る。従って、「流加細胞培養物」は、細胞、典型的には哺乳類細胞、及び培養培地が培養槽に最初に供給され、且つ培養終了前の定期的な細胞及び／又は産物の回収を伴い、又は伴わずさらなる培養栄養素が培養中に培養物に対して連続的に、又は不連続に徐々に補給される細胞培養物を指す。

【０１０９】

好適な細胞培養培地及びそこに含まれる栄養素は、当業者に周知されている。一実施形態では、細胞培養培地は、基礎培地と、少なくとも１つの加水分解物、例えば、大豆ベースの加水分解物、酵母ベースの加水分解物、又はこれらの２種類の加水分解物の組み合わせとを含むことで、変法基礎培地をもたらす。別の実施形態では、さらなる栄養素は、濃縮基礎培地など、基礎培地のみを含んでもよく、又は加水分解物、若しくは濃縮加水分解物のみを含んでもよい。好適な基礎培地としては、限定はされないが、ダルベッコ変法イーグル培地（ＤＭＥＭ）、ＤＭＥ／Ｆ１２、最小必須培地（ＭＥＭ）、イーグル基礎培地（ＢＭＥ）、ＲＰＭＩ　１６４０、Ｆ－１０、Ｆ－１２、α－最小必須培地（α－ＭＥＭ）、グラスゴー最小必須培地（Ｇ－ＭＥＭ）、ＰＦ　ＣＨＯ（例えば、ＣＨＯタンパク質不含培地（Ｓｉｇｍａ）又はＣＨＯ細胞用タンパク質不含ＥＸ－ＣＥＬＬ（商標）３２５　ＰＦ　ＣＨＯ無血清培地（ＳＡＦＣ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅ）を参照のこと、及びイスコフ改変ダルベッコ培地が挙げられる。基礎培地の他の例としては、ＢＭＥ基礎培地（Ｇｉｂｃｏ－Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ；Ｅａｇｌｅ，Ｈ（１９６５）Ｐｒｏｃ．Ｓｏｃ．Ｅｘｐ．Ｂｉｏｌ．Ｍｅｄ．８９，３６もまた参照のこと）；ダルベッコ変法イーグル培地（ＤＭＥＭ、粉末）（Ｇｉｂｃｏ－Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ（＃３１６００）；Ｄｕｌｂｅｃｃｏ　ａｎｄ　Ｆｒｅｅｍａｎ（１９５９）Ｖｉｒｏｌｏｇｙ　８：３９６；Ｓｍｉｔｈ　ｅｔ　ａｌ．，（１９６０）Ｖｉｒｏｌｏｇｙ　１２：１８５．Ｔｉｓｓｕｅ　Ｃｕｌｔｕｒｅ　Ｓｔａｎｄａｒｄｓ　Ｃｏｍｍｉｔｔｅｅ，Ｉｎ　Ｖｉｔｒｏ　６：２，９３もまた参照のこと）；ＣＭＲＬ　１０６６培地（Ｇｉｂｃｏ－Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ（＃１１５３０）；Ｐａｒｋｅｒ　ｅｔ　ａｌ．，（１９５７）Ｓｐｅｃｉａｌ　Ｐｕｂｌｉｃａｔｉｏｎｓ，Ｎ．Ｙ．Ａｃａｄｅｍｙ　ｏｆ　Ｓｃｉｅｎｃｅｓ，５：３０３もまた参照のこと）が挙げられる。

【０１１０】

基礎培地は無血清、つまり培地は血清（例えば、ウシ胎仔血清（ＦＢＳ）、ウマ血清、ヤギ血清、又は当業者に公知の任意の他の動物由来血清）を含有しないか、又は動物性タ

ンパク質不含培地又は化学限定培地であってもよい。
【０１１１】
基礎培地は、様々な無機及び有機緩衝剤、１つ又は複数の界面活性剤、及び塩化ナトリウムなどの、標準的な基礎培地に見られる特定の非栄養成分を除去するため、修飾され得る。基礎細胞培地からかかる構成成分を除去することにより、残りの栄養成分の濃度を高めることができ、細胞成長及びタンパク質発現が全体的に向上し得る。加えて、取り除いた構成成分を、細胞培養条件の要件に応じて、変法基礎細胞培地を含有する細胞培養培地に加え戻してもよい。特定の実施形態では、細胞培養培地は、変法基礎細胞培地と、以下の栄養素、すなわち、鉄源、組換え成長因子；緩衝剤；界面活性剤；容量オスモル濃度調節因子；エネルギー源；及び非動物性加水分解物の少なくとも１つとを含有する。加えて、変法基礎細胞培地は、任意選択的に、アミノ酸、ビタミン、又はアミノ酸とビタミンとの両方の組み合わせを含有し得る。別の実施形態では、変法基礎培地は、グルタミン、例えば、Ｌ－グルタミン、及び／又はメトトレキサートをさらに含有する。
【０１１２】
抗体産生は、当該技術分野において公知の流加、バッチ、潅流又は連続供給バイオリアクターを用いるバイオリアクタープロセスによって大量に行われ得る。大規模バイオリアクターは少なくとも１０００リットルの容量、例えば、約１，０００～１００，０００リットルの容量を有する。小規模バイオリアクターは、概して容積が約１００リットル以下の細胞培養を指し、約１リットル～約１００リットルの範囲であり得る。或いは、単回使用バイオリアクター（ＳＵＢ）が、大規模培養又は小規模培養のいずれにも用いられ得る。
【０１１３】
温度、ｐＨ、撹拌、曝気及び接種密度は、使用する宿主細胞及び発現させる組換えタンパク質に応じて異なり得る。例えば、組換えタンパク質細胞培養物は、３０～４５℃の温度に維持され得る。培地のｐＨは、培養プロセスの間、ｐＨが、６．０～８．０のｐＨ範囲内（特定の宿主細胞用であり得る）の所望されるレベルで留まるように監視されてもよい。
【０１１４】
ファージディスプレイ技法
モノクローナル抗体又は抗体断片は、ＭｃＣａｆｆｅｒｔｙ ｅｔ ａｌ．，（１９９０）Ｎａｔｕｒｅ，３４８：５５２－５５４、Ｃｌａｃｋｓｏｎ ｅｔ ａｌ．，（１９９１）Ｎａｔｕｒｅ，３５２：６２４－６２８及びＭａｒｋｓ ｅｔ ａｌ．，（１９９１）Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．，２２２：５８１－５９７に記載される技法を用いて作成される抗体ファージライブラリから単離することができる。かかる方法を使用して、抗体は、ヒトリンパ球に由来するｍＲＮＡから調製されたヒトＶＬ及びＶＨ ｃＤＮＡを使用して調製される組換えコンビナトリアル抗体ライブラリ、例えば、ｓｃＦｖファージディスプレイライブラリをスクリーニングすることによって単離することができる。かかるライブラリの調製及びスクリーニング方法は、当該技術分野において公知である。
【０１１５】
ファージディスプレイ方法では、機能性抗体ドメインが、それをコードするポリヌクレオチド配列を有するファージ粒子の表面に提示される。詳細な実施形態において、ファージを利用して、レパートリー又はコンビナトリアル抗体ライブラリ（例えば、ヒト又はマウスのもの）から発現する抗原結合ドメインを提示することができる。目的の抗原を結合する抗原結合ドメインを発現するファージを、標識された抗原又は固体表面若しくはビーズに結合若しくは捕捉されている抗原を使用して、選択又は同定することができる。これらの方法で用いられるファージは、典型的には、ファージ遺伝子ＩＩＩ又は遺伝子ＶＩＩＩタンパク質のいずれかと組換え融合されたＦａｂ、Ｆｖ又はジスルフィド安定化Ｆｖ抗体ドメインを有するファージから発現するｆｄ及びＭ１３結合ドメインを含む繊維状ファージである。
【０１１６】

ファージ選択後、ファージからの抗体コード領域は、ヒト抗体、ヒト化抗体、又は任意の他の所望される抗原結合断片を含む全抗体を作製するため、単離及び使用され得、哺乳動物細胞、昆虫細胞、植物細胞、酵母、及び細菌を含む任意の所望される宿主内で発現され得る。

【０１１７】

抗体の精製及び単離

組換え発現又はハイブリドーマ発現による産生後、抗体分子は、当該技術分野において公知の免疫グロブリン分子を精製する任意の方法により、例えば、イオン交換、親和性、特にプロテインＡ又はプロテインＧ親和性に対する親和性によるもの、及びサイズ排除カラムクロマトグラフィーを含むがこれらに限定されないクロマトグラフィー；遠心；溶解度の差によるか；又は任意の他の標準的なタンパク質精製技法により精製され得る。さらに、抗体又はその断片は、精製を促進することが知られる異種ポリペプチド配列（本明細書において「タグ」と称される）に融合されてもよい。

【０１１８】

組換え技術を用いるとき、抗体は細胞内に産生されるか、細胞膜周辺腔に産生されるか、又は培地中に直接分泌され得る。抗体が細胞内に産生される場合、最初の工程として、宿主細胞又は溶解した断片のいずれかである粒子状デブリが、例えば遠心又は限外ろ過により除去される。Ｃａｒｔｅｒ　ｅｔ　ａｌ．，（１９９２）Ｂｉｏ／Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ，１０：１６３－１６７は、大腸菌（Ｅ．ｃｏｌｉ）の細胞膜周辺腔に分泌される抗体の単離手順を記載している。抗体が培地中に分泌される場合、概して、初めにかかる発現系からの上清が、市販のタンパク質濃縮フィルタ、例えばＡｍｉｃｏｎ又はＭｉｌｌｉｐｏｒｅ　Ｐｅｌｌｉｃｏｎ限外ろ過ユニットを使用して濃縮される。前述の工程のいずれかにＰＭＳＦなどのプロテアーゼ阻害薬を含めてタンパク質分解を阻害してもよく、抗生物質を含めて外来性汚染物の成長を防止してもよい。

【０１１９】

細胞から調製された抗体組成物は、例えば、ヒドロキシルアパタイト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、イオン交換クロマトグラフィー、ゲル電気泳動、透析、及び／又はアフィニティークロマトグラフィーを、単独で、或いは他の精製工程との組み合わせで用いて精製することができる。

【０１２０】

ヒト抗体

ヒト抗体は、当該技術分野で周知の方法を用いて作製され得る。ヒト抗体は、抗体若しくはその断片の迅速なクリアランス又は抗体若しくはその断片に対する免疫応答の生成をもたらし得る、マウス又はラット可変及び／又は定常領域を有する抗体に関連した問題の一部を回避する。

【０１２１】

ヒト抗体は、インビトロ方法により誘導され得る。好例として、限定はされないが、ファージディスプレイ（ＭｅｄＩｍｍｕｎｅ（以前はＣＡＴ）、Ｍｏｒｐｈｏｓｙｓ、Ｄｙａｘ、Ｂｉｏｓｉｔｅ／Ｍｅｄａｒｅｘ、Ｘｏｍａ、Ｓｙｍｐｈｏｇｅｎ、Ａｌｅｘｉｏｎ（以前はＰｒｏｌｉｆｅｒｏｎ）、Ａｆｆｉｍｅｄ）リボソームディスプレイ（ＭｅｄＩｍｍｕｎｅ（以前はＣＡＴ））、酵母ディスプレイなどが挙げられる。未免疫ドナーからの免疫グロブリン可変（Ｖ）ドメイン遺伝子レパートリーから、ヒト抗体及び抗体断片をインビトロで産生するため、ファージディスプレイ技術を用いることができる。この技術によると、抗体Ｖドメイン遺伝子は、糸状バクテリオファージ、例えばＭ１３又はｆｄのメジャー又はマイナーコートタンパク質遺伝子のいずれかにインフレームでクローン化され、ファージ粒子の表面上に機能的抗体断片として提示される。糸状粒子がファージゲノムの一本鎖ＤＮＡコピーを含有することから、抗体の機能的特性に基づく選択はまた、それら特性を呈する抗体をコードする遺伝子の選択をもたらす。従って、ファージは、Ｂ細胞の特性の一部を模倣する。未免疫ヒトドナーからのＶ遺伝子のレパートリーが構築され得、多様な抗原（自己抗原を含む）アレイに対する抗体が、Ｍａｒｋｓ　ｅｔ　ａｌ．

，（１９９１） Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．２２２：５８１－５９７、又はＧｒｉｆｆｉｔｈ ｅｔ ａｌ．，（１９９３） ＥＭＢＯ Ｊ．１２：７２５－７３４により記載された技術に従い、本質的に単離され得る。ヒト抗体はまた、インビトロで活性化されたＢ細胞により作製されてもよい（米国特許第５，５６７，６１０号明細書及び米国特許第５，２２９，２７５号明細書を参照）。

【０１２２】

抗体断片

特定の実施形態では、本発明の抗体は、抗体断片又はかかる断片を含む抗体を含む。典型的には、抗体断片は、全長抗体の一部、典型的にはその抗原結合又は可変領域を含む。抗体断片の例として、Ｆａｂ、Ｆａｂ’、Ｆ（ａｂ’）$_2$、Ｆｄ及びＦｖ断片、二重特異性抗体、線状抗体並びに一本鎖抗体分子が挙げられる。一実施形態では、抗体断片は、抗原結合断片を含む。

【０１２３】

伝統的には、抗体の断片は、当該技術分野において公知の技法を用いたインタクトな抗体のタンパク質消化によって得られた。しかしながら、抗体の断片も、組換え宿主細胞が直接産生することができる。Ｆａｂ、Ｆｖ及びｓｃＦｖ抗体断片は全て、大腸菌（Ｅ．ｃｏｌｉ）の細胞型で発現させて、そこから分泌させることができるため、これらの断片は大量産生が容易に可能である。一実施形態では、抗体断片は、抗体ファージライブラリから単離することができる。或いは、Ｆａｂ’－ＳＨ断片を大腸菌（Ｅ．ｃｏｌｉ）から直接回収し、化学的にカップリングすることにより、Ｆ（ａｂ’）$_2$断片を形成することもできる（Ｃａｒｔｅｒ ｅｔ ａｌ．，（１９９２）Ｂｉｏ／Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ，１０：１６３－１６７）。別の手法によれば、Ｆ（ａｂ’）$_2$断片を組換え宿主細胞培養物から直接単離することができる。抗体断片を産生する他の技術が、当業者には明らかであろう。他の実施形態では、抗体は単鎖Ｆｖ断片（ｓｃＦｖ）である。

【０１２４】

抗体断片はまた、ヒト抗体の重（ＶＨ）鎖又は軽（ＶＬ）鎖の可変領域に対応する、ドメイン抗体、例えば抗体の小さい機能結合単位を含有する抗体、並びに抗原結合領域の対を形成する、タンデムＦｄセグメントの対（ＶＨ－ＣＨ１－ＶＨ－ＣＨ１）を含む直鎖抗体を含み得る（Ｚａｐａｔａ ｅｔ ａｌ．，（１９９５） Ｐｒｏｔｅｉｎ Ｅｎｇ．，８（１０）：１０５７－１０６２を参照）。

【０１２５】

変異体Ｆｃ領域

Ｆｃ領域内の変異体は、抗体のエフェクター機能を増強又は減少させ得、抗体の薬物動態特性、例えば半減期を改変し得る。従って、特定の実施形態では、抗体は、抗体の機能及び／又は薬物動態特性を変更するため、１つ以上の改変がＦｃ領域内でなされている、改変されたＦｃ領域（本明細書で「変異体Ｆｃ領域」とも称される）を含む。かかる改変は、ＩｇＧ、及びＡＤＣＣ、又はＡＤＣＰに対して、Ｃｌｑ結合及びＣＤＣ又はＦｃγＲ結合の増強又は減弱をもたらすことがある。本発明は、本明細書に記載の抗体とともに、エフェクター機能を微調整し、所望されるエフェクター機能を増強若しくは減弱させるか、又は提供するように改変が設けられている変異体Ｆｃ領域を包含する。変異体Ｆｃ領域を含む抗体は、ここで「Ｆｃ変異体抗体」とも称される。本明細書で用いられるとき、天然は、非修飾親配列を指し、天然Ｆｃ領域を含む抗体は、本明細書で「天然Ｆｃ抗体」と称される。Ｆｃ変異体抗体は、当業者に周知の方法により作製され得る。非限定例として、抗体コード領域（例えばハイブリドーマ由来）を単離することや、Ｆｃ領域内に１つ以上の所望される置換を設けることが挙げられる。或いは、抗体の抗原結合部分又は可変領域は、変異体Ｆｃ領域をコードするベクター内にサブクローン化されてもよい。一実施形態では、変異体Ｆｃ領域は、天然Ｆｃ領域と比べて、類似レベルでのエフェクター機能の誘導を示す。別の実施形態では、変異体Ｆｃ領域は、天然Ｆｃと比べて、より高いエフェクター機能の誘導を示す。エフェクター機能を測定するための方法は、当該技術分野で周知である。

【０１２６】
Ｆｃ領域の修飾は、限定はされないが、アミノ酸置換、アミノ酸付加、アミノ酸欠失及びＦｃアミノ酸への翻訳後修飾における変化（例えばグリコシル化）を含み、エフェクター機能を微調整するために用いられてもよい。
【０１２７】
Ｆｃ領域は、第１の定常領域免疫グロブリンドメイン以外の抗体の定常領域を含む。従ってＦｃは、ＩｇＡ、ＩｇＤ、及びＩｇＧの最後の２つの定常領域免疫グロブリンドメイン、及びＩｇＥ及びＩｇＭの最後の３つの定常領域免疫グロブリンドメイン、及びこれらのドメインに対する可動性ヒンジＮ末端を指す。ＩｇＡ及びＩｇＭに関しては、ＦｃはＪ鎖を含み得る。ＩｇＧに関しては、Ｆｃは免疫グロブリンドメインＣガンマ２及びＣガンマ３（Ｃγ２及びＣγ３）、及びＣガンマ１（Ｃγ１）とＣガンマ２（Ｃγ２）との間のヒンジを含み得る。Ｆｃ領域の境界は変わり得るが、ヒトＩｇＧ重鎖Ｆｃ領域は、通常、残基Ｃ２２６又はＰ２３０からそのカルボキシル端を含むように定義され、ここで付番は、Ｋａｂａｔに示される通りのＥＵインデックスに基づく。Ｆｃは、単離におけるこの領域を指してもよく、又は抗体、抗体断片、若しくはＦｃ融合タンパク質の文脈におけるこの領域を指してもよい。限定はされないが、ＥＵインデックスにより付番するときの２７０位、２７２位、３１２位、３１５位、３５６位、及び３５８位を含む複数の異なるＦｃ位置で多型が観察されており、従って提示される配列と先行技術の配列との間には、僅かな違いが存在し得る。
【０１２８】
一実施形態では、Ｆｃ変異抗体は天然Ｆｃ抗体と比較したとき、限定はされないが、ＦｃＲｎ、アイソフォームＦｃγＲＩＡ、ＦｃγＲＩＢ、及びＦｃγＲＩＣを含むＦｃγＲＩ（ＣＤ６４）；ＦｃγＲＩＩ（ＣＤ３２、アイソフォームＦｃγＲＩＩＡ、ＦｃγＲＩＩＢ、及びＦｃγＲＩＩＣを含む）；及びＦｃγＲＩＩＩ（ＣＤ１６、アイソフォームＦｃγＲＩＩＩＡ及びＦｃγＲＩＩＩＢを含む）を含め、１つ以上のＦｃ受容体に対して改変された結合親和性を呈する。
【０１２９】
抗体エフェクター機能は、特定の細胞傷害性細胞（例えばナチュラルキラー（ＮＫ）細胞、好中球、及びマクロファージ）上に提示されるＦｃ受容体（ＦｃＲ）上に結合した分泌Ｉｇが、これらの細胞傷害性エフェクター細胞が抗原保有細胞に特異的に結合し、その後に細胞を細胞毒で殺滅することを可能にする、細胞傷害性の一形成であるＡＤＣＣを含む。細胞の表面に特異的な特定の高親和性ＩｇＧ抗体は、細胞傷害性細胞に「備え」、かかる殺滅にとって必要とされる。細胞の溶解は、細胞外で生じ、直接的な細胞対細胞接触を必要とし、また補体を含まない。
【０１３０】
別の抗体エフェクター機能は、補体系による細胞破壊の生化学的事象を指すＣＤＣである。補体系は、抗体と組み合わさり、病原菌及び他の外来細胞を破壊する、正常血漿中に見出されるタンパク質の複雑系である。
【０１３１】
抗体エフェクター機能という用語によって包含されるさらに別のプロセスは、１つ以上のエフェクターリガンドを発現する非特異的細胞傷害性細胞が、細胞上の結合抗体を認識し、その後に細胞の食作用を引き起こすような細胞媒介性反応を指すＡＤＣＰである。
【０１３２】
特定の実施形態では、Ｆｃ変異体を含む抗体は、天然Ｆｃ領域を含む抗体と比べて、細胞傷害性又は食作用活性（例えば、ＡＤＣＣ、ＣＤＣ及びＡＤＣＰ）の増強を有する。
【０１３３】
特定の実施形態では、Ｆｃ変異体抗体は、天然Ｆｃ抗体と比べて、ＡＤＣＣ活性の低下を呈する。特定の実施形態では、Ｆｃ変異体抗体は、検出可能なＡＤＣＣ活性を有しない。具体的な実施形態では、ＡＤＣＣ活性の低下及び／又は低減は、Ｆｃ変異体抗体がＦｃリガンド及び／又は受容体に対して呈する親和性の低下に起因し得る。

【０１３４】
他の実施形態では、Ｆｃ変異体抗体は、天然Ｆｃ抗体と比べて、ＡＤＣＣ活性の増強を呈する。具体的な実施形態では、ＡＤＣＣ活性の増強は、Ｆｃ変異体抗体がＦｃリガンド及び／又は受容体に対して呈する親和性の増加に起因し得る。
【０１３５】
一実施形態では、Ｆｃ変異体抗体は、天然Ｆｃ抗体と比べて、Ｆｃ受容体ＦｃγＲＩＩＩＡへの結合の増強を有し、ＡＤＣＣ活性の増強を有する。
【０１３６】
特定の実施形態では、細胞傷害性は、ＣＤＣによって媒介され、Ｆｃ変異体抗体は、天然Ｆｃ抗体と比べて、ＣＤＣ活性の増強又は低減のいずれかを有する。一実施形態では、本明細書に記載の抗体は、天然Ｆｃ抗体と比べて、ＣＤＣ活性の増強を呈する。具体的な実施形態では、ＣＤＣ活性の増強は、Ｆｃ変異体抗体がＣ１ｑに対して呈する親和性の増強に起因し得る。抗体は、抗体の主要な作用機序の１つ、ＣＤＣを増強するＣＯＭＰＬＥＧＥＮＴ（登録商標）技術（協和発酵キリン株式会社）のおかげで、天然Ｆｃ抗体と比べてＣＤＣ活性の増強を呈し得る。抗体のアイソタイプＩｇＧ３の一部が治療抗体の標準的なアイソタイプであるＩｇＧ１の対応する領域に導入される、アイソタイプキメラ化と称される手法を用いて、ＣＯＭＰＬＥＧＥＮＴ（登録商標）技術は、ＩｇＧ１又はＩｇＧ３のいずれかの場合を上回るほどにＣＤＣ活性を著しく増強する一方で、ＩｇＧ１の望ましい特徴、例えば、ＡＤＣＣ、ＰＫ特性及びプロテインＡ結合性を保持する。さらにそれは、増強されたＡＤＣＣ及びＣＤＣ活性を有するさらに優れた治療Ｍａｂ（ＡＣＣＲＥＴＡＭＡＢ（登録商標））を作出する、ＰＯＴＥＬＬＩＧＥＮＴ（登録商標）技術と一緒に用いることができる。
【０１３７】
別の実施形態では、Ｆｃ変異体抗体は、天然Ｆｃ抗体と比べて、ＡＤＣＣ活性の増強及び血清半減期の増加を有してもよい。一実施形態では、Ｆｃ変異体抗体は、天然Ｆｃ抗体と比べて、ＣＤＣ活性の増強及び血清半減期の増加を呈してもよい。別の実施形態では、Ｆｃ変異体抗体は、天然Ｆｃ抗体と比べて、ＡＤＣＣ活性の増強、ＣＤＣ活性の増強及び血清半減期の増加を有してもよい。
【０１３８】
Ｆｃ領域を含むタンパク質の血清半減期は、Ｆｃ領域のＦｃＲｎに対する結合親和性を増強することにより増加され得る。用語「抗体半減期」は、本明細書で用いられるとき、抗体分子のその投与後の平均生存時間の尺度としての抗体の薬物動態特性を意味する。抗体半減期は、例えば、血清中（すなわち循環半減期）、又は他の組織内での測定として、患者の身体又はその特定区画からの既知量の免疫グロブリンの５０パーセントを除去するのに要求される時間として表すことができる。半減期は、１つの免疫グロブリン又は免疫グロブリンクラスから別のものにわたって変動してもよい。一般に、抗体半減期の増加が、投与される抗体の循環中の平均滞留時間（ＭＲＴ）の増加をもたらす。
【０１３９】
半減期の減少は、患者に投与される薬物量の減少並びに投与頻度の減少を可能にする。抗体の血清半減期を増加させるため、サルベージ受容体結合エピトープが抗体又はその断片に組み込まれてもよい。本明細書で用いられるとき、用語「サルベージ受容体結合エピトープ」は、ＩｇＧ分子のインビボ血清半減期の増加に関与するＩｇＧ分子（例えば、ＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３、又はＩｇＧ４）のＦｃ領域のエピトープを指す。
【０１４０】
或いは、半減期の増加を有する抗体は、Ｆｃ及びＦｃＲｎ受容体間の相互作用に関与するものとして同定されたアミノ酸残基を修飾することにより作製されてもよい。さらに、本明細書に記載の抗体の半減期は、当該技術分野で広範に利用される技術によるＰＥＧ又はアルブミンへのコンジュゲーションにより増加され得る。
【０１４１】
一実施形態では、本発明は、Ｆｃ変異体を提供し、ここでＦｃ領域は、Ｋａｂａｔで示

される通り、ＥＵインデックスによる付番として、２２１、２２５、２２８、２３４、２３５、２３６、２３７、２３８、２３９、２４０、２４１、２４３、２４４、２４５、２４７、２５０、２５１、２５２、２５４、２５５、２５６、２５７、２６２、２６３、２６４、２６５、２６６、２６７、２６８、２６９、２７９、２８０、２８４、２９２、２９６、２９７、２９８、２９９、３０５、３０８、３１３、３１６、３１８、３２０、３２２、３２５、３２６、３２７、３２８、３２９、３３０、３３１、３３２、３３３、３３４、３３９、３４１、３４３、３７０、３７３、３７８、３９２、４１６、４１９、４２１、４２８、４３３、４３４、４３５、４３６、４４０、及び４４３から選択される１つ以上の位置に、修飾（例えば、アミノ酸置換、アミノ酸挿入、アミノ酸欠失）を含む。任意選択的に、Ｆｃ領域は、当業者に公知の追加的及び／又は代替的位置に修飾を含んでもよい。

【０１４２】

具体的な実施形態において、本開示はＦｃ変異体を提供し、ここではＦｃ領域が、Ｋａｂａｔに示される通りのＥＵインデックスにより付番したときの２２１Ｋ、２２１Ｙ、２２５Ｅ、２２５Ｋ、２２５Ｗ、２２８Ｐ、２３４Ｄ、２３４Ｅ、２３４Ｎ、２３４Ｑ、２３４Ｔ、２３４Ｈ、２３４Ｙ、２３４Ｉ、２３４Ｖ、２３４Ｆ、２３５Ａ、２３５Ｄ、２３５Ｒ、２３５Ｗ、２３５Ｐ、２３５Ｓ、２３５Ｎ、２３５Ｑ、２３５Ｔ、２３５Ｈ、２３５Ｙ、２３５Ｉ、２３５Ｖ、２３５Ｅ、２３５Ｆ、２３６Ｅ、２３７Ｌ、２３７Ｍ、２３７Ｐ、２３９Ｄ、２３９Ｅ、２３９Ｎ、２３９Ｑ、２３９Ｆ、２３９Ｔ、２３９Ｈ、２３９Ｙ、２４０Ｉ、２４０Ａ、２４０Ｔ、２４０Ｍ、２４１Ｗ、２４１Ｌ、２４１Ｙ、２４１Ｅ、２４１Ｒ、２４３Ｗ、２４３Ｌ、２４３Ｙ、２４３Ｒ、２４３Ｑ、２４４Ｈ、２４５Ａ、２４７Ｌ、２４７Ｖ、２４７Ｇ、２５０Ｅ、２５０Ｑ、２５１Ｆ、２５２Ｌ、２５２Ｙ、２５４Ｓ、２５４Ｔ、２５５Ｌ、２５６Ｅ、２５６Ｆ、２５６Ｍ、２５７Ｃ、２５７Ｍ、２５７Ｎ、２６２Ｉ、２６２Ａ、２６２Ｔ、２６２Ｅ、２６３Ｉ、２６３Ａ、２６３Ｔ、２６３Ｍ、２６４Ｌ、２６４Ｉ、２６４Ｗ、２６４Ｔ、２６４Ｒ、２６４Ｆ、２６４Ｍ、２６４Ｙ、２６４Ｅ、２６５Ａ、２６５Ｇ、２６５Ｎ、２６５Ｑ、２６５Ｙ、２６５Ｆ、２６５Ｖ、２６５Ｉ、２６５Ｌ、２６５Ｈ、２６５Ｔ、２６６Ｉ、２６６Ａ、２６６Ｔ、２６６Ｍ、２６７Ｑ、２６７Ｌ、２６８Ｅ、２６９Ｈ、２６９Ｙ、２６９Ｆ、２６９Ｒ、２７０Ｅ、２８０Ａ、２８４Ｍ、２９２Ｐ、２９２Ｌ、２９６Ｅ、２９６Ｑ、２９６Ｄ、２９６Ｎ、２９６Ｓ、２９６Ｔ、２９６Ｌ、２９６Ｉ、２９６Ｈ、２９６Ｇ、２９７Ｓ、２９７Ｄ、２９７Ｅ、２９８Ａ、２９８Ｈ、２９８Ｉ、２９８Ｔ、２９８Ｆ、２９９Ｉ、２９９Ｌ、２９９Ａ、２９９Ｓ、２９９Ｖ、２９９Ｈ、２９９Ｆ、２９９Ｅ、３０５Ｉ、３０８Ｆ、３１３Ｆ、３１６Ｄ、３１８Ａ、３１８Ｓ、３２０Ａ、３２０Ｓ、３２２Ａ、３２２Ｓ、３２５Ｑ、３２５Ｌ、３２５Ｉ、３２５Ｄ、３２５Ｅ、３２５Ａ、３２５Ｔ、３２５Ｖ、３２５Ｈ、３２６Ａ、３２６Ｄ、３２６Ｅ、３２６Ｇ、３２６Ｍ、３２６Ｖ、３２７Ｇ、３２７Ｗ、３２７Ｎ、３２７Ｌ、３２８Ｓ、３２８Ｍ、３２８Ｄ、３２８Ｅ、３２８Ｎ、３２８Ｑ、３２８Ｆ、３２８Ｉ、３２８Ｖ、３２８Ｔ、３２８Ｈ、３２８Ａ、３２９Ｆ、３２９Ｈ、３２９Ｑ、３３０Ｋ、３３０Ｇ、３３０Ｔ、３３０Ｃ、３３０Ｌ、３３０Ｙ、３３０Ｖ、３３０Ｉ、３３０Ｆ、３３０Ｒ、３３０Ｈ、３３１Ｇ、３３１Ａ、３３１Ｌ、３３１Ｍ、３３１Ｆ、３３１Ｗ、３３１Ｋ、３３１Ｑ、３３１Ｅ、３３１Ｓ、３３１Ｖ、３３１Ｉ、３３１Ｃ、３３１Ｙ、３３１Ｈ、３３１Ｒ、３３１Ｎ、３３１Ｄ、３３１Ｔ、３３２Ｄ、３３２Ｓ、３３２Ｗ、３３２Ｆ、３３２Ｅ、３３２Ｎ、３３２Ｑ、３３２Ｔ、３３２Ｈ、３３２Ｙ、３３２Ａ、３３３Ａ、３３３Ｄ、３３３Ｇ、３３３Ｑ、３３３Ｓ、３３３Ｖ、３３４Ａ、３３４Ｅ、３３４Ｈ、３３４Ｌ、３３４Ｍ、３３４Ｑ、３３４Ｖ、３３４Ｙ、３３９Ｔ、３７０Ｅ、３７０Ｎ、３７８Ｄ、３９２Ｔ、３９６Ｌ、４１６Ｇ、４１９Ｈ、４２１Ｋ、４２８Ｌ、４２８Ｆ、４３３Ｋ、４３３Ｌ、４３４Ａ、４２４Ｆ、４３４Ｗ、４３４Ｙ、４３６Ｈ、４４０Ｙ及び４４３Ｗから選択される少なくとも１つの置換を含む。任意選択的に、Ｆｃ領域は、当業者に公知の追加的及び／又は代替的なアミノ酸置換を含み得る。

【０１４３】

具体的な実施形態において、本発明はＦｃ変異抗体を提供し、ここではＦｃ領域が、Ｋａｂａｔに示される通りのＥＵインデックスにより付番したときの２２８、２３４、２３５及び３３１から選択される１つ以上の位置に少なくとも１つの修飾（例えば、アミノ酸置換、アミノ酸挿入、アミノ酸欠失）を含む。一実施形態では、修飾は、Ｋａｂａｔに示される通りのＥＵインデックスにより付番したときの２２８Ｐ、２３４Ｆ、２３５Ｅ、２３５Ｆ、２３５Ｙ、及び３３１Ｓから選択される少なくとも１つの置換である。

【０１４４】

別の具体的な実施形態において、本発明はＦｃ変異抗体を提供し、ここではＦｃ領域がＩｇＧ４　Ｆｃ領域であり、且つＫａｂａｔに示される通りのＥＵインデックスにより付番したときの２２８及び２３５から選択される１つ以上の位置に少なくとも１つの修飾を含む。さらに別の具体的な実施形態において、Ｆｃ領域はＩｇＧ４　Ｆｃ領域であり、天然に存在しないアミノ酸は、Ｋａｂａｔに示される通りのＥＵインデックスにより付番したときの２２８Ｐ、２３５Ｅ及び２３５Ｙから選択される。

【０１４５】

別の具体的な実施形態において、本発明はＦｃ変異体を提供し、ここではＦｃ領域が、Ｋａｂａｔに示される通りのＥＵインデックスにより付番したときの２３９、３３０及び３３２から選択される１つ以上の位置に少なくとも１つの天然に存在しないアミノ酸を含む。一実施形態では、修飾は、Ｋａｂａｔに示される通りのＥＵインデックスにより付番したときの２３９Ｄ、３３０Ｌ、３３０Ｙ、及び３３２Ｅから選択される少なくとも１つの置換である。

【０１４６】

具体的な実施形態において、本発明はＦｃ変異抗体を提供し、ここではＦｃ領域が、Ｋａｂａｔに示される通りのＥＵインデックスにより付番したときの２５２、２５４、及び２５６から選択される１つ以上の位置に少なくとも１つの天然に存在しないアミノ酸を含む。一実施形態では、修飾は、Ｋａｂａｔに示される通りのＥＵインデックスにより付番したときの２５２Ｙ、２５４Ｔ及び２５６Ｅから選択される少なくとも１つの置換である。一実施形態では、修飾は、Ｋａｂａｔに示される通りのＥＵインデックスにより付番したときの3つの置換２５２Ｙ、２５４Ｔ及び２５６Ｅ（「ＹＴＥ」として公知）を含む。

【０１４７】

特定の実施形態では、ＩｇＧ抗体により誘発されるエフェクター機能は、タンパク質のＦｃ領域に連結した炭水化物部分に依存する（Ｃｌａｕｄｉａ　Ｆｅｒｒａｒａ　ｅｔ　ａｌ．，（２００６）Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ　ａｎｄ　Ｂｉｏｅｎｇｉｎｅｅｒｉｎｇ　９３：８５１－８６１）。従って、エフェクター機能を増強又は低減するため、Ｆｃ領域のグリコシル化の修飾がなされ得る。従って、一実施形態では、抗体のＦｃ領域は、アミノ酸残基の改変されたグリコシル化を含む。別の実施形態では、アミノ酸残基の改変されたグリコシル化の結果、エフェクター機能が低下される。別の実施形態では、アミノ酸残基の改変されたグリコシル化の結果、エフェクター機能が増強される。一実施形態では、Ｆｃ領域は、フコシル化の低減を有する。別の実施形態では、Ｆｃ領域は脱フコシル化される。

【０１４８】

シアル酸のＩｇＧ分子上のオリゴ糖への付加は、それらの抗炎症活性を増強し、細胞傷害性を改変し得る（Ｋｅｎｅｋｏ　ｅｔ　ａｌ．，Ｓｃｉｅｎｃｅ　（２００６）　３１３：６７０－６７３；Ｓｃａｌｌｏｎ　ｅｔ　ａｌ．，（２００７）　Ｍｏｌ．Ｉｍｍｕｎｏ．４４（７）：１５２４－３４）。特に、シアリル化の増強を有するＩｇＧ分子が抗炎症特性を有する一方で、シアリル化の低減を有するＩｇＧ分子は、免疫刺激特性の増強（例えば、ＡＤＣＣ活性の増強）を有する。従って、抗体は、特定の治療的用途のため、適切なシアリル化特性で修飾され得る。一実施形態では、抗体のＦｃ領域は、天然Ｆｃ領域と比べて改変されたシアリル化特性を含む。一実施形態では、抗体のＦｃ領域は、天然Ｆｃ領域と比べて、シアリル化特性の増強を含む。別の実施形態では、抗体のＦｃ領域は、天然Ｆｃ領域と比べて、シアリル化特性の低下を含む。Ｆｃドメインの他の修飾及び／

又は置換及び／又は付加及び／又は欠失は、当業者に容易に理解されるであろう。

【０１４９】

グリコシル化

一実施形態では、本抗体の可変領域内のグリコシル化パターンは、抗体の抗原に対する親和性を改変するように修飾される。一実施形態では、抗体は、脱グリコシル化される（すなわち、抗体はグリコシル化が欠如する）。かかる炭水化物修飾は、例えば抗体配列内部の１つ以上のグリコシル化部位を改変することにより達成され得る。例えば、１つ以上の可変領域フレームワークグリコシル化部位の排除をもたらし、それによりその部位でのグリコシル化を排除するような１つ以上のアミノ酸置換がなされ得る。かかる脱グリコシル化は、抗体の抗原に対する親和性を増強させ得る。さらに、脱グリコシル化抗体は、必要なグリコシル化機構が欠如した細菌細胞内で産生されてもよい。

【０１５０】

抗体コンジュゲート

別の実施形態では、抗Ａ型インフルエンザ抗体又はその断片は、ある部分に共有結合的に結合されることで、抗体コンジュゲートと称され得る。抗体への結合に適した部分は、限定はされないが、タンパク質、ペプチド、薬剤、標識、及び細胞毒を含み、また抗体又はその断片にコンジュゲートされることで、抗体又は断片の１つ以上の特性（例えば、生化学、結合及び／又は機能）を改変又は微調整し得る。コンジュゲートを形成し、アミノ酸及び／又はポリペプチド改変並びに翻訳後修飾を行うための方法は、当該技術分野で周知である。

【０１５１】

一実施形態では、結合される物質は、治療剤、検出可能標識（本明細書ではレポーター分子とも称される）又は固体支持体である。抗体との結合に好適な物質としては、限定はされないが、アミノ酸、ペプチド、タンパク質、多糖、ヌクレオシド、ヌクレオチド、オリゴヌクレオチド、核酸、ハプテン、薬物、ホルモン、脂質、脂質集合体、合成高分子、高分子マイクロパーティクル、生体細胞、ウイルス、フルオロフォア、発色団、色素、毒素、ハプテン、酵素、抗体、抗体断片、放射性同位元素、固体マトリックス、半固体マトリックス及びそれらの組み合わせが挙げられる。

【０１５２】

特定の実施形態では、抗体は固体支持体にコンジュゲートされる。抗体は、スクリーニング及び／又は精製及び／又は製造プロセスの一部として固体支持体にコンジュゲートされてもよい。或いは抗体は、診断方法又は組成物の一部として固体支持体にコンジュゲートされてもよい。好適な固体支持体は、典型的には液相に対して実質的に不溶性である。多数の支持体が利用可能であり、当業者には周知されており、固体及び半固体マトリックス、例えばエーロゲル及びハイドロゲル、樹脂、ビーズ、バイオチップ（薄膜被覆バイオチップを含む）、マイクロ流体チップ、シリコンチップ、マルチウェルプレート（マイクロタイタープレート又はマイクロプレートとも称される）、膜、導電性及び非導電性金属、ガラス（顕微鏡スライドを含む）及び磁気支持体が含まれる。固体支持体のより具体的な例には、シリカゲル、高分子膜、粒子、誘導体化プラスチックフィルム、ガラスビーズ、綿、プラスチックビーズ、アルミナゲル、多糖、例えばセファロース、ポリ（アクリレート）、ポリスチレン、ポリ（アクリルアミド）、ポリオール、アガロース、寒天、セルロース、デキストラン、デンプン、フィコール（ＦＩＣＯＬＬ）、ヘパリン、グリコーゲン、アミロペクチン、マンナン、イヌリン、ニトロセルロース、ジアゾセルロース、ポリ塩化ビニル、ポリプロピレン、ポリエチレン（ポリ（エチレングリコール）を含む）、ナイロン、ラテックスビーズ、磁気ビーズ、常磁性ビーズ、超常磁性ビーズ、及びデンプンが含まれる。

【０１５３】

一部の実施形態では、固体支持体は、限定はされないが、ヒドロキシル、カルボキシル、アミノ、チオール、アルデヒド、ハロゲン、ニトロ、シアノ、アミド、尿素、カーボネート、カルバメート、イソシアネート、スルホン、スルホネート、スルホンアミド、及び

スルホキシドを含めた、抗体を結合するための反応性官能基を含み得る。

【０１５４】

好適な固相支持体は、所望の最終用途及び様々な合成プロトコルの適合性を基準として選択することができる。例えば、抗体を固体支持体に結合するのにアミド結合形成が望ましい場合、ポリスチレン（例えば、Ｂａｃｈｅｍ Ｉｎｃ．、Ｐｅｎｉｎｓｕｌａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ等から入手可能なＰＡＭ樹脂）、ＰＯＬＹＨＩＰＥ（商標）樹脂（Ａｍｉｎｏｔｅｃｈ，カナダから調達可能）、ポリアミド樹脂（Ｐｅｎｉｎｓｕｌａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓから調達可能）、ポリエチレングリコールにグラフトされたポリスチレン樹脂（ＴｅｎｔａＧｅｌ（商標）、Ｒａｐｐ Ｐｏｌｙｍｅｒｅ，Ｔｕｂｉｎｇｅｎ，ドイツ）、ポリジメチルアクリルアミド樹脂（Ｍｉｌｌｉｇｅｎ／Ｂｉｏｓｅａｒｃｈ，Ｃａｌｉｆｏｒｎｉａから入手可能）、又はＰＥＧＡビーズ（Ｐｏｌｙｍｅｒ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓから調達可能）などの、概してペプチド合成に有用な樹脂が用いられ得る。

【０１５５】

特定の実施形態では、診断又は他のアッセイのため、抗体又はその断片は標識にコンジュゲートされ、ここで抗体及び／又はその関連リガンドは検出され得る。標識は、限定はされないが、発色団、フルオロフォア、蛍光タンパク質、りん光色素、タンデム色素、粒子、ハプテン、酵素及び放射性同位元素を含む。

【０１５６】

特定の実施形態では、抗体は、限定はされないが、ピレン、アントラセン、ナフタレン、アクリジン、スチルベン、インドール又はベンズインドール、オキサゾール又はベンゾキサゾール、チアゾール又はベンゾチアゾール、４－アミノ－７－ニトロベンズ－２－オキサ－１，３－ジアゾール（ＮＢＤ）、シアニン、カルボシアニン、カルボスチリル、ポルフィリン、サリチル酸塩、アントラニル酸塩、アズレン、ペリレン、ピリジン、キノリン、ボラポリアザインダシン、キサンテン、オキサジン、ベンゾキサジン、カルバジン、フェナレノン、クマリン、ベンゾフラン、ベンズフェナレノン、及びそれらの誘導体を含むフルオロフォアにコンジュゲートされる。本明細書で用いられるとき、オキサジンは、レゾルフィン、アミノオキサジノン、ジアミノオキサジン、及びそれらのベンゾ置換類似体を含む。

【０１５７】

具体的な実施形態では、フルオロフォアは、キサンテン（ロードル、ローダミン、フルオレセイン及びそれらの誘導体）、クマリン、シアニン、ピレン、オキサジン及びボラポリアザインダシンを含む。他の実施形態では、かかるフルオロフォアは、スルホン化キサンテン、フッ素化キサンテン、スルホン化クマリン、フッ素化クマリン及びスルホン化シアニンである。さらに含まれるのは、ＡＬＥＸＡ ＦＬＵＯＲ（登録商標）、ＤｙＬｉｇｈｔ、ＣＹ（登録商標）Ｄｙｅｓ、ＢＯＤＩＰＹ（登録商標）、ＯＲＥＧＯＮ ＧＲＥＥＮ（登録商標）、ＰＡＣＩＦＩＣ ＢＬＵＥ（商標）、ＩＲＤＹＥ（登録商標）、ＦＡＭ、ＦＩＴＣ、及びＲＯＸ（商標）の商品名で販売され、またそれらとして一般に公知の色素である。

【０１５８】

抗体に結合するフルオロフォアの選択が、コンジュゲート抗体の吸収及び蛍光発光特性を決定し得る。抗体及び抗体結合リガンドに用いることのできるフルオロフォア標識の物理的特性としては、限定はされないが、スペクトル特性（吸収、発光及びストークスシフト）、蛍光強度、寿命、偏光及び光退色速度、又はそれらの組み合わせが挙げられる。これらの物理的特性は全て、あるフルオロフォアを別のフルオロフォアと区別するために用いることができ、従って多重化解析を可能にする。特定の実施形態では、フルオロフォアは４８０ｎｍより大きい波長に吸収極大を有する。他の実施形態では、フルオロフォアは、４８８ｎｍ～５１４ｎｍ若しくはその近傍（アルゴンイオンレーザー励起源の出力による励起に特に好適）又は５４６ｎｍ近傍（水銀アークランプによる励起に特に好適）を吸収する。他の実施形態ではフルオロフォアは、組織又は全生物体適用にＮＩＲ（近赤外領

域）で発光することができる。蛍光標識の他の望ましい特性としては、例えば抗体の標識が細胞又は生物体（例えば、生きている動物）で実施される場合に、細胞透過性及び低毒性を挙げることができる。

【０１５９】

特定の実施形態では、酵素が標識であり、本明細書に記載される抗体にコンジュゲートされる。酵素は、検出可能なシグナルの増幅を達成することができ、アッセイ感度の増加がもたらされるため、望ましい標識である。酵素それ自体は検出可能な反応を生じないが、適切な基質を接触させると基質を分解する働きをし、それにより変換された基質が蛍光、比色又は発光シグナルを生じる。標識試薬の一つの酵素が複数の基質についての検出可能なシグナルへの変換をもたらし得るため、酵素は検出可能なシグナルを増幅する。酵素基質は、好ましい計測可能な生成物、例えば比色、蛍光又は化学発光生成物が得られるように選択される。かかる基質は当該技術分野で広範に用いられており、当業者には周知されている。

【０１６０】

一実施形態では、比色基質又は蛍光発生基質及び酵素の組み合わせは、西洋ワサビペルオキシダーゼなどのオキシドレダクターゼと、３，３’－ジアミノベンジジン（ＤＡＢ）及び３－アミノ－９－エチルカルバゾール（ＡＥＣ）などの識別性のある色（それぞれ褐色及び赤色）を生じる基質とを使用する。検出可能な生成物を生じる他の比色オキシドレダクターゼ基質としては、限定はされないが、２，２－アジノ－ビス（３－エチルベンゾチアゾリン－６－スルホン酸）（ＡＢＴＳ）、ｏ－フェニレンジアミン（ＯＰＤ）、３，３’，５，５’－テトラメチルベンジジン（ＴＭＢ）、ｏ－ジアニシジン、５－アミノサリチル酸、４－クロロ－１－ナフトールが挙げられる。蛍光発生基質としては、限定はされないが、ホモバニリン酸又は４－ヒドロキシ－３－メトキシフェニル酢酸、還元型フェノキサジン及び還元型ベンゾチアジン、例えばＡｍｐｌｅｘ（登録商標）レッド試薬及びその変種及び還元型ジヒドロキサンテン、例えばジヒドロフルオレセイン及びジヒドロローダミン、例えばジヒドロローダミン１２３が挙げられる。チラミドであるペルオキシダーゼ基質は、酵素が作用する前に本質的に検出可能であり得るが、チラミドシグナル増幅（ＴＳＡ）として記載される過程でペルオキシダーゼの作用によって「その場に固定」される点で、ペルオキシダーゼ基質のユニークなクラスに相当する。これらの基質は、細胞、組織又はアレイである試料中の抗原を、後に顕微鏡法、フローサイトメトリー、光学走査及び蛍光定量法によって検出するために標識するのに広範に利用されている。

【０１６１】

別の実施形態において、比色（及びある場合には蛍光発生）基質と酵素との組み合わせは、ホスファターゼ酵素、例えば酸性ホスファターゼ、アルカリホスファターゼ又はかかるホスファターゼの組換え型を、５－ブロモ－６－クロロ－３－インドリルリン酸（ＢＣＩＰ）、６－クロロ－３－インドリルリン酸、５－ブロモ－６－クロロ－３－インドリルリン酸、ｐ－ニトロフェニルリン酸、又はｏ－ニトロフェニルリン酸などの比色基質と組み合わせて、又は４－メチルウンベリフェリルリン酸、６，８－ジフルオロ－７－ヒドロキシ－４－メチルクマリニルリン酸、フルオレセイン二リン酸、３－Ｏ－メチルフルオレセインリン酸、レゾルフィンリン酸、９Ｈ－（１，３－ジクロロ－９，９－ジメチルアクリジン－２－オン－７－イル）リン酸（ＤＤＡＯリン酸）、又はＥＬＦ　９７、ＥＬＦ３９若しくは関連するリン酸などの蛍光発生基質と組み合わせて用いる。

【０１６２】

グリコシダーゼ、特にβ－ガラクトシダーゼ、β－グルクロニダーゼ及びβ－グルコシダーゼが、さらなる好適な酵素である。適切な比色基質としては、限定はされないが、５－ブロモ－４－クロロ－３－インドリルβ－Ｄ－ガラクトピラノシド（Ｘ－ｇａｌ）及び同様のインドリルガラクトシド、グルコシド、及びグルクロニド、ｏ－ニトロフェニルβ－Ｄ－ガラクトピラノシド（ＯＮＰＧ）及びｐ－ニトロフェニルβ－Ｄ－ガラクトピラノシドが挙げられる。一実施形態では、蛍光発生基質には、レゾルフィンβ－Ｄ－ガラクトピラノシド、フルオレセインジガラクトシド（ＦＤＧ）、フルオレセインジグルクロニド

及びこれらの構造的変種、４－メチルウンベリフェリルβ－Ｄ－ガラクトピラノシド、カルボキシウンベリフェリルβ－Ｄ－ガラクトピラノシド及びフッ素化クマリンβ－Ｄ－ガラクトピラノシドが含まれる。

【０１６３】

さらなる酵素としては、限定はされないが、コリンエステラーゼ及びペプチダーゼなどのヒドロラーゼ、グルコースオキシダーゼ及びシトクロムオキシダーゼなどのオキシダーゼ、及びそれに対する好適な基質が知られるレダクターゼが挙げられる。

【０１６４】

一部のアッセイには、化学発光を生じる酵素及びその適切な基質が好ましい。それらとしては、限定はされないが、天然及び組換え形態のルシフェラーゼ及びエクオリンが挙げられる。ホスファターゼ、グリコシダーゼ及びオキシダーゼに対する化学発光生成基質、例えば、安定ジオキセタン、ルミノール、イソルミノール及びアクリジニウムエステルを含有するものが、さらに有用である。

【０１６５】

別の実施形態では、ビオチンなどのハプテンが標識として利用され得る。ビオチンは、酵素系において検出可能なシグナルをさらに増幅するよう機能することができ、且つ単離目的でアフィニティークロマトグラフィーにおいて使用するタグとして機能することができるため、有用である。検出目的では、アビジン－ＨＲＰなどの、ビオチンに対して親和性を有する酵素コンジュゲートが用いられる。続いてペルオキシダーゼ基質を添加すると、検出可能なシグナルが生成される。

【０１６６】

ハプテンにはまた、ホルモン、天然に存在する及び合成の薬物、汚染物、アレルゲン、作用因子分子、成長因子、ケモカイン、サイトカイン、リンホカイン、アミノ酸、ペプチド、化学的中間体、ヌクレオチドなども含まれる。

【０１６７】

特定の実施形態では、蛍光タンパク質が標識として抗体にコンジュゲートされてもよい。蛍光タンパク質の例には、緑色蛍光タンパク質（ＧＦＰ）及びフィコビリタンパク質及びこれらの誘導体が含まれる。蛍光タンパク質、特にフィコビリタンパク質は、タンデム色素で標識された標識試薬を作り出すのに特に有用である。このようなタンデム色素は、より大きいストークスシフトの達成を目的として蛍光タンパク質及びフルオロフォアを含み、ここでは発光スペクトルが蛍光タンパク質の吸収スペクトルの波長からさらに遠くにシフトする。これは、試料中の低量の抗原を検出するのに特に有利であり、ここでは放たれる蛍光の光が最大限最適化され、換言すれば、放たれる光がほとんど乃至全く蛍光タンパク質に再吸収されない。これが機能するには、蛍光タンパク質とフルオロフォアとがエネルギー伝達対として働き、ここで蛍光タンパク質はフルオロフォアが吸収する波長で発光し、次にそのフルオロフォア（ｆｌｕｏｒｐｈｏｒｅ）が、その蛍光タンパク質のみで達成され得たより蛍光タンパク質からさらに遠い波長を発光する。或いは、フルオロフォアがエネルギー供与体として働き、且つ蛍光タンパク質がエネルギー受容体である。

【０１６８】

医学的処置及び利用

本明細書に記載の抗Ａ型インフルエンザ抗体並びにその結合断片及び変異体は、Ａ型インフルエンザウイルス感染の治療、低減、予防のため、及び／又は検出、診断及び／若しくは予後のため、用いられてもよい。

【０１６９】

診断の方法は、抗体又は抗体断片を試料に接触させることを含んでもよい。かかる試料は、例えば、鼻道、洞腔（ｓｉｎｕｓ　ｃａｖｉｔｉｅｓ）、唾液腺、肺、肝臓、膵臓、腎臓、耳、目、胎盤、消化管、心臓、卵巣、下垂体、副腎、甲状腺、脳又は皮膚から採取された組織試料であってもよい。検出、診断、及び／又は予後の方法もまた、抗原／抗体複合体の検出を含んでもよい。

【０１７０】

一実施形態では、本発明は、抗体又はその抗原結合断片、又は抗体又はその抗原結合断片を含む医薬組成物を有効量で対象に投与することにより対象を治療する方法を提供する。一実施形態では、本方法は、被験体におけるＡ型インフルエンザウイルス感染を低下させる。別の実施形態では、本方法は、被験体において、Ａ型インフルエンザウイルス感染に対して、予防し、そのリスクを低下させるか又は遅延させる。一実施形態では、被験体は、哺乳類である。より特定の実施形態では、被験体は、ヒトである。一実施形態では、被験体は、限定はされないが、例えば易感染性被験体を含む、Ａ型インフルエンザウイルス感染に対して特にリスクがあるか又は感受性が高い被験体を含む。

【０１７１】

一実施形態では、抗体又はその抗原結合断片は、実質的に精製される（すなわち、その効果を制限するか又は望まれない副作用をもたらす物質から実質的に遊離される）。一実施形態では、抗体又はその抗原結合断片は、曝露後、すなわち対象がＡ型インフルエンザウイルスに曝露されているか又はＡ型インフルエンザウイルスに感染されてから投与される。別の実施形態では、抗体又はその抗原結合断片は、曝露前、すなわちＡ型インフルエンザウイルスにまだ曝露されていないか又はＡ型インフルエンザウイルスにまだ感染されていない対象に投与される。一実施形態では、抗体又はその抗原結合断片は、１つ以上のＡ型インフルエンザサブタイプに対して血清陰性である対象に投与される。別の実施形態では、抗体又はその抗原結合断片は、１つ以上のＡ型インフルエンザサブタイプに対して血清陽性である対象に投与される。別の実施形態では、患者の血清状態は未知である。一実施形態では、抗体又はその抗原結合断片は、曝露、感染又は症状発現から１、２、３、４、５、６又は７日以内に対象に投与される。別の実施形態では、抗体又はその抗原結合断片は、曝露、感染又は症状発現から１、２、３、４、５、６、７、１０、１５、２０、２５、３０日後又は任意の日数後に対象に投与され得る。

【０１７２】

治療は、単回用量スケジュール又は複数回用量スケジュールであり得、抗体又はその抗原結合断片は受動免疫で用いることができる。

【０１７３】

一実施形態では、抗体又はその抗原結合断片は、別の抗ウイルス薬の投与なしに対象に投与される。別の実施形態では、抗体又はその抗原結合断片は、１つ以上の抗ウイルス薬と組み合わせて対象に投与される。一実施形態では、抗体又はその抗原結合断片は、１つ以上の小分子抗ウイルス薬と組み合わせて対象に投与される。小分子抗ウイルス薬は、ノイラミニダーゼ阻害剤、例えばオセルタミビル（ＴＡＭＩＦＬＵ（登録商標））、ザナミビル（ＲＥＬＥＮＺＡ（登録商標））及びアダマンタン、例えばアマンタジン及びリマンタジンを含む。

【０１７４】

別の実施形態では、本発明は、Ａ型インフルエンザウイルス感染の予防又は治療のための薬剤として用いられる組成物を提供する。一実施形態では、組成物は、本明細書に記載のような抗体又はその抗原結合断片を含む。一実施形態では、組成物は、唯一の抗ウイルス薬としての本明細書に記載のような抗体又はその抗原結合断片を含む。別の実施形態では、組成物は、１つ以上の追加的な抗ウイルス薬と組み合わせた本明細書に記載のような抗体又はその抗原結合断片を含む。

【０１７５】

本発明はまた、医薬組成物を調製する方法であって、モノクローナル抗体であるモノクローナル抗体を、１つ以上の薬学的に許容できる担体と混合するステップを含む、方法を提供する。

【０１７６】

本発明はまた、医薬組成物を提供する。かかる組成物は、抗体又はその抗原結合断片、及び薬学的に許容できる担体を治療有効量で含む。用語「薬学的に許容できる」は、本明細書で使用されるとき、動物、より詳細にはヒトで使用するため、連邦政府若しくは州政府の規制機関によって認可されている、又は米国薬局方若しくは他の一般に認められてい

る薬局方において収載されていることを意味する。用語「担体」は、治療薬とともに投与される希釈剤、アジュバント、賦形剤、又は媒体を指す。一実施形態では、医薬組成物は、治療有効量の抗体又はその抗原結合断片を、適切な投与のための形態を患者に提供するため、例えば、精製形態で、適量の担体と一緒に含有する。調合物は、投与様式に適する必要がある。

【０１７７】

投薬及び投与

本明細書で用いられるとき、用語「用量」は、特定時間に又は特定間隔で服用される抗体治療薬の特定量を指す。用語「投与」は、本明細書で用いられるとき、治療目的を達成するための組成物、例えば本明細書に記載の抗体又は抗体断片を含む医薬組成物の投与を指す。

【０１７８】

「投与スケジュール」は、用量及び用量が投与される時間間隔の双方を指す。一実施形態では、投与スケジュールは、治療サイクルの一部である。用語「治療サイクル」は、本明細書で用いられるとき、抗体が投与される期間とその後の抗体の投与がない期間とを指し、ここで後続サイクルの開始は、治療サイクルが抗体の投与日間の休薬期間を可能にする上で、抗体の投与の再開によって示される。治療サイクルは、日数が、例えば、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、又は３０日に変動してもよい。

【０１７９】

一実施形態では、抗体は、１日を超えて投与される。例えば、抗体は、１日１回で１日、又は１日１回で２日以上の連続日投与されてもよく、例えば、抗体は、１日１回で１、２、３、４、５、６、７、８、９、又は１０日間投与されてもよい。一実施形態では、同じ用量の抗体が毎日投与される。別の実施形態では、異なる用量の抗体が１日以上投与される。例えば、患者は、前日に受けた用量と比べてより高用量の抗体をある投与日に受けてもよい。或いは、患者は、前日に受けた用量と比べてより低用量の抗体をある投与日に受けてもよい。別の実施形態では、抗体の投与は、１回以上の治療サイクルにわたり行ってもよい。一実施形態では、同じ投与スケジュールは、後続する治療サイクルにて、すなわち初回治療サイクルの完了後、反復されてもよい。

【０１８０】

一実施形態では、少なくとも約２００ｍｇ、２２５ｍｇ、２５０ｍｇ、２７５ｍｇ、３００ｍｇ、３２５ｍｇ、３５０ｍｇ、３７５ｍｇ、４００ｍｇ、４２５ｍｇ、４５０ｍｇ、４７５ｍｇ、５００ｍｇ、５２５ｍｇ、５５０ｍｇ、５７５ｍｇ、６００ｍｇ、６２５ｍｇ、６５０ｍｇ、６７５ｍｇ、７００ｍｇ、７２５ｍｇ、７５０ｍｇ、７７５ｍｇ、８００ｍｇ、８２５ｍｇ、８５０ｍｇ、８７５ｍｇ、９００ｍｇ、９２５ｍｇ、９５０ｍｇ、９７５ｍｇ、１，０００ｍｇ、１，２５０ｍｇ、１，５００ｍｇ、１，７５０ｍｇ、２，０００ｍｇ、２，２５０ｍｇ、２，５００ｍｇ、２，７５０ｍｇ、３，０００ｍｇ、３，２５０ｍｇ、又は３，５００ｍｇの抗Ａ型インフルエンザ抗体又はその抗原結合断片が患者に投与される。

【０１８１】

一実施形態では、最大２００ｍｇ、２２５ｍｇ、２５０ｍｇ、２７５ｍｇ、３００ｍｇ、３２５ｍｇ、３５０ｍｇ、３７５ｍｇ、４００ｍｇ、４２５ｍｇ、４５０ｍｇ、４７５ｍｇ、５００ｍｇ、５２５ｍｇ、５５０ｍｇ、５７５ｍｇ、６００ｍｇ、６２５ｍｇ、６５０ｍｇ、６７５ｍｇ、７００ｍｇ、７２５ｍｇ、７５０ｍｇ、７７５ｍｇ、８００ｍｇ、８２５ｍｇ、８５０ｍｇ、８７５ｍｇ、９００ｍｇ、９２５ｍｇ、９５０ｍｇ、９７５ｍｇ、１，０００ｍｇ、１，２５０ｍｇ、１，５００ｍｇ、１，７５０ｍｇ、２，０００ｍｇ、２，２５０ｍｇ、２，５００ｍｇ、２，７５０ｍｇ、３，０００ｍｇ、３，２５０ｍｇ又は３，５００ｍｇの抗Ａ型インフルエンザ抗体又はその抗原結合断片が患者に投与される。

【０１８２】

別の実施形態では、約２００ｍｇ、２２５ｍｇ、２５０ｍｇ、２７５ｍｇ、３００ｍｇ、３２５ｍｇ、３５０ｍｇ、３７５ｍｇ、４００ｍｇ、４２５ｍｇ、４５０ｍｇ、４７５ｍｇ、５００ｍｇ、５２５ｍｇ、５５０ｍｇ、５７５ｍｇ、６００ｍｇ、６２５ｍｇ、６５０ｍｇ、６７５ｍｇ、７００ｍｇ、７２５ｍｇ、７５０ｍｇ、７７５ｍｇ、８００ｍｇ、８２５ｍｇ、８５０ｍｇ、８７５ｍｇ、９００ｍｇ、９２５ｍｇ、９５０ｍｇ、９７５ｍｇ、１，０００ｍｇ、１，２５０ｍｇ、１，５００ｍｇ、１，７５０ｍｇ、２，０００ｍｇ、２，２５０ｍｇ、２，５００ｍｇ、２，７５０ｍｇ、３，０００ｍｇ、３，２５０ｍｇ又は３，５００ｍｇの抗Ａ型インフルエンザ抗体又はその抗原結合断片が患者に投与される。

【０１８３】

別の実施形態では、２００ｍｇ、２２５ｍｇ、２５０ｍｇ、２７５ｍｇ、３００ｍｇ、３２５ｍｇ、３５０ｍｇ、３７５ｍｇ、４００ｍｇ、４２５ｍｇ、４５０ｍｇ、４７５ｍｇ、５００ｍｇ、５２５ｍｇ、５５０ｍｇ、５７５ｍｇ、６００ｍｇ、６２５ｍｇ、６５０ｍｇ、６７５ｍｇ、７００ｍｇ、７２５ｍｇ、７５０ｍｇ、７７５ｍｇ、８００ｍｇ、８２５ｍｇ、８５０ｍｇ、８７５ｍｇ、９００ｍｇ、９２５ｍｇ、９５０ｍｇ、９７５ｍｇ、１，０００ｍｇ、１，２５０ｍｇ、１，５００ｍｇ、１，７５０ｍｇ、２，０００ｍｇ、２，２５０ｍｇ、２，５００ｍｇ、２，７５０ｍｇ、３，０００ｍｇ、３，２５０ｍｇ又は３，５００ｍｇの抗Ａ型インフルエンザ抗体又はその抗原結合断片が患者に投与される。

【０１８４】

一実施形態では、本明細書に提供される用量は、平均体重及び他の関連する生物学的特性を伴う成体への投与が意図される。別の実施形態では、平均体重又は他の関連する生物学的特性を伴わない（例えば、肥満又は小児患者を含む）成体への投与が意図され、ここで用量は、体重又は他の関連する生物学的特性などの事柄を補うように調整される。別の実施形態では、本明細書に提供される用量は、幼児又は小児への投与が意図され、ここで用量は、体重や他の関連する生物学的特性などの事柄を補うように調整される。

【０１８５】

抗体は、任意の便宜的経路により投与されてもよく、他の生物活性剤と一緒に、例えば、オセルタミビル（ＴＡＭＩＦＬＵ（登録商標））、ザナミビル（ＲＥＬＥＮＺＡ（登録商標））及びアダマンタン、例えばアマンタジン及びリマンタジンなどの１つ以上の抗ウイルス薬と組み合わせて投与されてもよい。

【０１８６】

投与は、全身又は局所であり得、単回用量又は複数回用量として投与され得る。

【０１８７】

様々な送達系は公知であり、抗Ａ型インフルエンザ抗体を投与するため、用いることができる。投与方法は、限定はされないが、非経口投与、例えば、皮内、筋肉内、腹腔内、静脈内及び皮下投与；硬膜外、及び粘膜経路、例えば、鼻腔内、吸入及び経口経路などを含む。さらなる特定の実施形態では、抗体は、非経口的に、例えば、筋肉内、静脈内又は皮下に投与される。

【０１８８】

一実施形態では、抗体は、静脈内に投与される。さらなる特定の実施形態では、抗体は、静脈内（ＩＶ）注入ポンプを用いて投与される。一実施形態では、抗体は、少なくとも約１ｍｇ／分、５ｍｇ／分、１０ｍｇ／分、１５ｍｇ／分又は２０ｍｇ／分、２５ｍｇ／分、３０ｍｇ／分、３５ｍｇ／分、４０ｍｇ／分、４５ｍｇ／分又は５０ｍｇ／分の注入速度で静脈内に投与される。別の実施形態では、注入速度は、約１０ｍｇ／分、１５ｍｇ／分又は２０ｍｇ／分、２５ｍｇ／分、３０ｍｇ／分、４０ｍｇ／分、又は５０ｍｇ／分である。一実施形態では、抗体は、長時間にわたり、例えば、少なくとも約１時間、２時間、３時間、４時間、５時間又は６時間、及び最大で約３時間、４時間、５時間又は６時間の期間にわたり、静脈内注入により投与される。別の実施形態では、抗体は、長時間、例えば、約１時間、２時間、３時間、４時間、５時間又は６時間にわたり、静脈内注入に

より投与される。
【０１８９】
キット及び製品
別の実施形態では、Ａ型インフルエンザウイルス感染の治療及び／又は予防にとって有用な材料を含有する製品が提供される。一実施形態では、製品は、容器と、容器上部の又は容器に伴うラベル又は添付文書を含む。好適な容器は、例えば、ボトルバイアル、及びシリンジを含み、例えばガラス又はプラスチックを含む種々の材料から形成されてもよい。一実施形態では、容器は、Ａ型インフルエンザウイルス感染を治療及び／又は予防するのに有効な組成物を保持する。一実施形態では、組成物は、本明細書に記載のような抗Ａ型インフルエンザ抗体又はその断片を含む。
【０１９０】
一実施形態では、製品は、組成物がＡ型インフルエンザウイルス感染を治療及び／又は予防するために用いられることを示すラベル又は添付文書を含む。一実施形態では、ラベル又は添付文書は、抗体又は抗原結合断片が、曝露後、すなわち対象がＡ型インフルエンザウイルスに曝露されているか又はＡ型インフルエンザウイルスに感染されてから投与され得ることを示す。別の実施形態では、ラベル又は添付文書は、抗体又はその抗原結合断片が、曝露前、すなわちＡ型インフルエンザウイルスにまだ曝露されていないか又はＡ型インフルエンザウイルスにまだ感染されていない対象に投与され得ることを示す。一実施形態では、ラベル又は添付文書は、抗体又はその抗原結合断片が、１つ以上のＡ型インフルエンザサブタイプについて血清陰性である対象に投与され得ることを示す。別の実施形態では、ラベル又は添付文書は、抗体又はその抗原結合断片が、１つ以上のＡ型インフルエンザサブタイプについて血清陽性である対象に投与され得ることを示す。別の実施形態では、組成物は、血清状態が未知である患者に投与される。一実施形態では、ラベル又は添付文書は、抗体又はその抗原結合断片が、曝露、感染又は症状発現から１、２、３、４、５、６又は７日以内に対象に投与され得ることを示す。別の実施形態では、抗体又はその抗原結合断片は、曝露、感染又は症状発現から１、２、３、４、５、６、７、１０、１５、２０、２５、３０日後又は任意の日数後に対象に投与され得る。
【０１９１】
一実施形態では、製品は、抗Ａ型インフルエンザ抗体又は断片、例えば限定はされないが、ノイラミニダーゼ阻害剤、例えばオセルタミビル（ＴＡＭＩＦＬＵ（登録商標））、ザナミビル（ＲＥＬＥＮＺＡ（登録商標））及びアダマンタン、例えばアマンタジン及びリマンタジンに加えて、１つ以上の小分子抗ウイルス薬を含む。
【０１９２】
本発明に記載の通りの抗体及びその断片はまた、Ａ型インフルエンザウイルス感染の診断用キット中又はワクチン免疫原性を監視するためのキット中に含まれてもよい。
【実施例】
【０１９３】
実施例１
健常成人における二重盲検、単回用量、プラセボ対照、用量漸増試験において、ＭＥＤＩ８８５２の安全性及び薬物動態を評価した。
【０１９４】
Ａ．対象
以下の組み入れ基準：健常男性又は女性、１８～６５歳、４５ｋｇ～１１０ｋｇの間の体重、１４０ｍｍＨｇ未満の収縮期血圧（ＢＰ）及び９０ｍｍＨｇ未満の拡張期血圧を用いて、対象４０名を評価した。
【０１９５】
Ｂ．用量
対象４０名は、コホートにより無作為化し、４つの一定用量コホートを通じて１日目（投与の１日目）にＭＥＤＩ８８５２又はプラセボのいずれかの単回静脈内用量を受けた。ＭＥＤＩ８８５２は、５０ｍｇ／ｍＬの濃度で無菌液体製剤として供給し、２℃～８℃（

３６°Ｆ～４６°Ｆ）で貯蔵した。投与前、ＭＥＤＩ８８５２は、静脈内バッグ中の０．９％（ｗ／ｖ）生理食塩水で希釈し、静脈内注入として投与した。プラセボ／希釈液は、注射用の０．９％（ｗ／ｖ）生理食塩水であった。静脈内注入ポンプを用いて、２０ｍｇ／分の一定注入速度を伴う０．２μｍ又は０．２２μｍの低タンパク質結合フィルタを通して静脈内注入を施した。

【０１９６】

対象４０名は、以下の４つのコホートに無作為化した。

・コホート１：単回静脈内注入として、２５０ｍｇのＭＥＤＩ８８５２（ｎ＝６）又はプラセボ（ｎ＝２）

・コホート２：単回静脈内注入として、７５０ｍｇのＭＥＤＩ８８５２（ｎ＝１０）又はプラセボ（ｎ＝２）

・コホート３：単回静脈内注入として、１，５００ｍｇのＭＥＤＩ８８５２（ｎ＝１０）又はプラセボ（ｎ＝２）

・コホート４：単回静脈内注入として、３，０００ｍｇのＭＥＤＩ８８５２（ｎ＝６）又はプラセボ（ｎ＝２）

【０１９７】

Ｃ．薬物動態

検証されたサンドイッチ酵素結合免疫吸着測定法を用いてＭＥＤＩ８８５２の薬物動態（ＰＫ）を評価するため、血液試料を収集した。血液試料は、予め特定された時点で採取した。

【０１９８】

図１に示す平均±標準偏差プロットは、ＭＥＤＩ８８５２濃度特性が一般に、初期の迅速な低下、その後のより緩徐な低下を示すことを示す。

【０１９９】

以下のＰＫパラメータ：最大血清濃度（C_{max}）、最大血清濃度到達時間（T_{max}）、半減期（$t_{1/2}$）、時間０～ｔの濃度対時間曲線下面積（AUC_{0-t}）、時間０～無限大の濃度対時間曲線下面積（AUC_{0-inf}）、定常状態容積（V_{ss}）、分布容積（V_z）、及びクリアランス（ＣＬ）を見積もるため、Ｐｈｅｎｉｘ ＷｉｎＮｏｎｌｉｎ（Ｐｈａｒｓｉｇｈｔ Ｃｏｒｐｏｒａｔｉｏｎ，Ｓｔ．Ｌｏｕｉｓ，ＭＯ）を用いる非コンパートメント分析（ＮＣＡ）を実行した。表１に示す結果は、単回静脈内投与後の半減期が約１９．４～２２．６日であったことを示す。さらに、投与群中の半減期、クリアランス（ＣＬ）、及び定常状態分布容積（V_{ss}）における一貫したＰＫ値は、ＭＥＤＩ８８５２ＰＫが用量線形であることを示す。

【０２００】

表1

用量	パラメータ	$t_{1/2}$	C_{max}	AUC_{tau}	AUC_{∞}	T_{max}*	CL	V_{ss}
(mg)		(日)	(μg/mL)	(μg*日/mL)	(μg*日/mL)	(日)	(mL/日)	(mL)
250	N	6	6	6	6	6	6	6
	平均(SD)	22.6 (4.0)	85.2 (16.6)	953 (150)	1000 (167)	0.04	257 (52)	7690 (1670)
750	N	10	10	10	10	10	10	10
	平均(SD)	19.4 (4.6)	235 (56.7)	2850 (762)	2990 (794)	0	269 (79.7)	6510 (986)
1,500	N	10	10	10	10	10	10	10
	平均(SD)	20.9 (4.4)	497 (171)	5860 (2640)	6360 (2570)	0.04	318 (277)	8150 (6380)
3,000	N	6	6	6	6	6	6	6
	平均(SD)	21.7 (6.6)	1110 (307)	16600 (5520)	17700 (6110)	0	200 (111)	5260 (741)

C_{max} = 最大観察濃度; AUC_{∞} = 時間0～無限大の濃度対時間曲線下面積
AUC_{∞}=時間0～無限大の曲線下面積; $t_{1/2}$ = 終末除去半減期;
CL = 全身クリアランス; V_{ss} = 投与後の定常状態分布容積;
N = 数; SD = 標準偏差
*Tmaxにおける中央値が報告される

Ｄ．集団モデリング及びシミュレーション

集団分析は、ＮＯＮＭＥＭ（バージョン７．２）（ＩＣＯＮ Ｄｅｖｅｌｏｐｍｅｎｔ Ｓｏｌｕｔｉｏｎｓ，Ｄｕｂｌｉｎ，Ｉｒｅｌａｎｄから市販）を用いて実施した。データを説明するため、一次除去を伴う２区画モデルを用いた。次に、ＭＥＤＩ８８５２集団ＰＫをシミュレートするため、ＮＯＮＭＥＭ集団モデルを用いた（図２）。結果は、７５０ｍｇ群と３，０００ｍｇ群との間の十分な濃度分離を示す。

【０２０２】

Ｅ．抗薬剤抗体

抗薬剤抗体（ＡＤＡ）の血清中のＭＥＤＩ８８５２に対する応答を電気化学発光、溶液相、架橋イムノアッセイを用いて評価するため、血液試料を１５日目（±１）、２９日目（±２）及び１０１日目（±５）に収集した。全てのＡＤＡ結果は陰性であった（すなわち抗薬剤抗体は見出されなかった）。

【０２０３】

実施例２

ＭＥＤＩ８８５２を用いる第１ｂ／２ａ相臨床試験は次のように実施する。Ａ型インフルエンザウイルス感染を有する外来個体に、ＭＥＤＩ８８５２を７５０ｍｇ又は３０００ｍｇの用量で静脈内投与により投与する。一部の個体には、ＭＥＤＩ８８５２の投与前、投与時、又は投与後に、現行の標準治療であるオセルタミビルも投与する。感染は、迅速抗原試験陽性で確認するか、又は試験部位での培養、ＰＣＲ又は抗原試験で確認することができる。治療計画を下の表２に示す。

【０２０４】

【表２】

表 2　　治療計画

コホート	対象の数	治療計画
1	40	75 mg のオセルタミビルを 1 日 2 回 5 日間の経口および 単回 IV 注入として 750 mg の MEDI8852
2	40	75 mg のオセルタミビルを 1 日 2 回 5 日間の経口および 単回 IV 注入として 3,000 mg の MEDI8852
3	40	75 mg のオセルタミビルを 1 日 2 回 5 日間の経口および 単回 IV 注入としてプラセボ
4	40	単回 IV 注入として 3,000 mg の MEDI8852

【０２０５】

一般に、抗体の１回限りの投与計画を検討するが、後続用量を投与してもよい。

【０２０６】

ＭＥＤＩ８８５２の有効性は、１日２回で１０日目にかけて、７つのインフルエンザ症状（咳、鼻閉、咽頭炎、疲労、頭痛、筋肉痛、及び発熱状態）についての４ポイントスケール（０、不在；１、軽度；２、中等度；３、重度）を用いて；また毎日で１０日目にかけて、１１ポイントの視覚的アナログスケール（０、正常の活動を遂行できない；１０、正常の活動を完全に遂行できる）を用いて評価することができる。

【０２０７】

インフルエンザ症状の持続時間及び重症度並びに通常の活動を遂行する能力を取り戻すまでの時間は、記述統計学を用いて要約することができる。インフルエンザ症状の消散までの時間は、カプラン・マイヤー曲線により要約することができる。

【０２０８】

ＭＥＤＩ８８５２＋オセルタミビルの安全性特性は、オセルタミビル単独の場合と類似

し、ＭＥＤＩ８８５２＋オセルタミビルの消散までの時間は、オセルタミビル単独の場合よりも迅速である。

【０２０９】

実施例３

ＭＥＤＩ８８５２を用いる第２ｂ相臨床試験は、次のように実施する。Ａ型インフルエンザウイルス感染を有する入院個体に、ＭＥＤＩ８８５２を２５０ｍｇ、７５０ｍｇ、１５００ｍｇ、又は３０００ｍｇの用量で静脈内に投与する。感染は、迅速抗原試験陽性で確認され得るか、又は試験部位での培養、ＰＣＲ又は抗原試験で確認され得る。一部の個体には、ＭＥＤＩ８８５２の投与前、投与時、又は投与後に、現行の標準治療であるオセルタミビルも投与してもよい。投与計画は、局所処方情報に従う必要があり、経口的に（ＰＯ）１日２回（ＢＩＤ）５日間の７５ｍｇでのオセルタミビルを含み得る。一部の対象は、ＰＯ、ＢＩＤ、最大１０日間の最大１５０ｍｇの用量でのオセルタミビルを受けてもよく、他の対象はまた、吸入ザナミビルを受けてもよい。一般に、抗体の１回限りの投与計画を検討するが、後続用量を投与してもよい。

【０２１０】

安全性特性はオセルタミビルと類似し、有効性はオセルタミビル単独よりも良好である。有効性は、呼吸機能の正常化までの時間（主要エンドポイント）により、また他の二次エンドポイントにより評価することができる。

【０２１１】

参照による援用

本明細書に引用される全ての参考文献、例えば、特許、特許出願、論文、教科書などやそれらに引用される参考文献は、それらについてまだ言及していない範囲内で、その全体が参照により本明細書中に援用される。

【０２１２】

配列情報

配列番号１（ＶＨヌクレオチド配列）

【化１】

caggtccagctgcagcagagcggccccggactggtcaagccttcacagacactgagcctgacatgcgccattagcgga
gatagcgtgagctcctacaatgccgtgtggaactggatcaggcagtctccaagtcgaggactggagtggctgggacgaa
catactatagatccgggtggtacaatgactatgctgaatcagtgaaaagccgaattactatcaaccccgatacctccaaga
atcagttctctctgcagctgaacagtgtgacccctgaggacacagccgtgtactactgcgccagaagcggccatatcacc
gtctttggcgtcaatgtggatgctttcgatatgtgggggcaggggactatggtcaccgtgtcaagc

配列番号２（ＶＨアミノ酸配列）

【化２】

QVQLQQSGPGLVKPSQTLSLTCAISGDSVSSYNAVWNWIRQSPSRGLEWLGRTYYRS
GWYNDYAESVKSRITINPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTAVYYCARSGHITVFGVNVDAF
DMWGQGTMVTVSS

配列番号３　ＨＣＤＲ１　　ＳＹＮＡＶＷＮ

配列番号４　ＨＣＤＲ２　　ＲＴＹＹＲＳＧＷＹＮＤＹＡＥＳＶＫＳ

配列番号５　ＨＣＤＲ３　　ＳＧＨＩＴＶＦＧＶＮＶＤＡＦＤＭ

配列番号６（ＶＬヌクレオチド配列）

【化３】

gatattcagatgacccagagcccttccagcctgtccgcttcagtgggggatcgagtgaccattacctgccgaaccagcca
gagcctgagctcctacacgcactggtatcagcagaagcccggcaaagcccctaagctgctgatctacgccgcttctagtc
gggggtccggagtgccaagccggttctccggatctgggagtggaaccgactttaccctgacaatttcaagcctgcagccc
gaggatttcgctacatactactgtcagcagagcagaactttcgggcagggcactaaggtggagatcaaa

配列番号７（ＶＬアミノ酸配列）

【化４】

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRTSQSLSSYTHWYQQKPGKAPKLLIYAASSRGSGV
PSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSRTFGQGTKVEIK

配列番号８　ＬＣＤＲ１　　ＲＴＳＱＳＬＳＳＹＴＨ
配列番号９　ＬＣＤＲ２　　ＡＡＳＳＲＧＳ
配列番号１０　ＬＣＤＲ３　　ＱＱＳＲＴ

【図１】

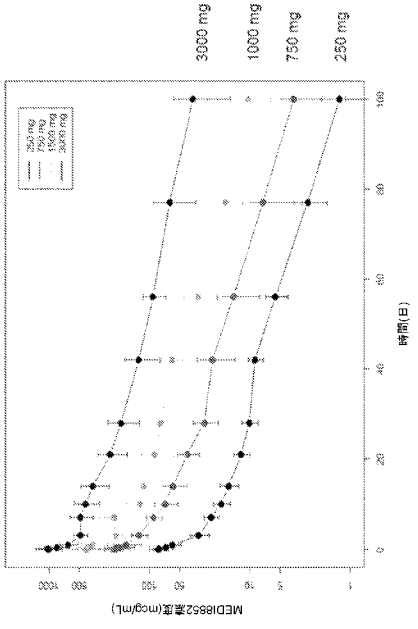


図１

【図２】

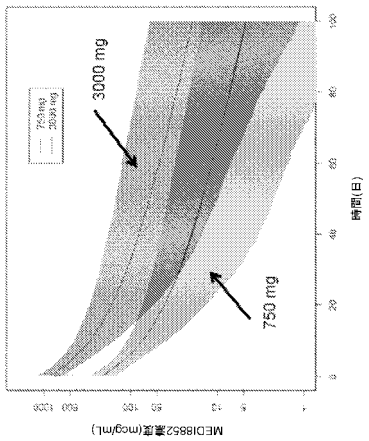


図２

【配列表】
2019502715000001.app

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2017/013086

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC(8) - A61K 39/145; A61P 31/16; C07K 14/11; C07K 16/08; C07K 16/10; C12N 15/44 (2017.01)
CPC - A61K 39/145; A61K 2039/545; C07K 14/11; C07K 16/08; C07K 16/10; C07K 16/1018; C12N 2760/16111; G01N 2333/11 (2017.02)

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

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
See Search History document

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched
USPC - 424/147.1; 424/159.1; 424/208.1; 424/209.1; 435/339; 530/388.3 (keyword delimited)

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

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 2010/0080813 A1 (LANZAVECCHIA) 01 April 2010 (01.04.2010) entire document	1-4, 19-22, 31-33, 39, 40
A	WO 2013/007770 A1 (CRUCELL HOLLAND B.V. et al) 17 January 2013 (17.01.2013) entire document	1-4, 19-22, 31-33, 39, 40
A	WO 2013/086052 A2 (TRELLIS BIOSCIENCE, LLC) 13 June 2013 (13.06.2013) entire document	1-4, 19-22, 31-33, 39, 40
A	WO 2014/158001 A1 (CELLTRION INC.) 02 October 2014 (02.10.2014) entire document	1-4, 19-22, 31-33, 39, 40
A	WO 2015/051010 A1 (MEDIMMUNE, LLC et al) 09 April 2015 (09.04.2015) entire document	1-4, 19-22, 31-33, 39, 40

☐ 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
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed
"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
01 March 2017	31 MAR 2017
Name and mailing address of the ISA/US Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents P.O. Box 1450, Alexandria, VA 22313-1450 Facsimile No. 571-273-8300	Authorized officer Blaine R. Copenheaver PCT Helpdesk: 571-272-4300 PCT OSP: 571-272-7774

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (January 2015)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2017/013086

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

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:

   a. ☒ forming part of the international application as filed:

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

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

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

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

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

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

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

3. Additional comments:

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2017/013086

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3. ☒ Claims Nos.: 5-11, 12a, 12b, 13-18, 23-30, 34-38, 41
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

フロントページの続き

(51)Int.Cl.			F I			テーマコード（参考）
Ａ６１Ｐ	*31/16*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	31/13		
Ｃ０７Ｋ	*16/10*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	31/16		
			Ｃ０７Ｋ	16/10	ＺＮＡ	

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

(72)発明者 マロリー，レイバーン
アメリカ合衆国 ２０８７８ メリーランド州，ゲイサーズバーグ，ワン メディミューン ウェイ，メディミューン，エルエルシー
(72)発明者 ロビー，ガブリエル
アメリカ合衆国 ２０８７８ メリーランド州，ゲイサーズバーグ，ワン メディミューン ウェイ，メディミューン，エルエルシー
(72)発明者 レン，ソング
アメリカ合衆国 ２０８７８ メリーランド州，ゲイサーズバーグ，ワン メディミューン ウェイ，メディミューン，エルエルシー

Ｆターム(参考) 4C084 AA19 NA05 ZB332
4C085 AA13 AA14 AA16 CC23 DD62 EE01 GG02
4C086 AA01 AA02 BA07 MA02 MA04 NA05 ZB33
4C206 AA01 AA02 FA29 GA02 GA36 KA01 MA02 MA04 NA05 ZB33
4H045 AA11 AA20 AA30 BA10 BA41 DA76 EA20 EA29 FA72 FA74