

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2015-232002

(P2015-232002A)

(43) 公開日 平成27年12月24日(2015.12.24)

(51) Int.Cl. F I テーマコード (参考)  
**C O 7 K 16/18 (2006.01)** C O 7 K 16/18 Z N A 4 H O 4 5

審査請求 有 請求項の数 1 O L 外国語出願 (全 42 頁)

(21) 出願番号	特願2015-135643 (P2015-135643)	(71) 出願人	513250798
(22) 出願日	平成27年7月6日 (2015.7.6)		プロセナ バイオサイエンシーズ リミテ
(62) 分割の表示	特願2014-539089 (P2014-539089)		ッド
原出願日	平成24年10月26日 (2012.10.26)		アイルランド 1 ダブリン, 25-2
(31) 優先権主張番号	61/553, 131		8 ノース ウォール キー
(32) 優先日	平成23年10月28日 (2011.10.28)		25-28 North Wall Quay, Dublin 1 (IE)
(33) 優先権主張国	米国 (US)	(74) 代理人	110001139
(31) 優先権主張番号	61/711, 208		S K特許業務法人
(32) 優先日	平成24年10月8日 (2012.10.8)	(74) 代理人	100130328
(33) 優先権主張国	米国 (US)		弁理士 奥野 彰彦
		(74) 代理人	100130672
			弁理士 伊藤 寛之

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 アルファシヌクレインを認識するヒト化抗体

(57) 【要約】 (修正有)

【課題】 ヒト化 9 E 4 抗体の提供。

【解決手段】 特定配列を有する成熟ヒト化重鎖可変領域、および、特定配列を含む成熟軽鎖可変領域を含み、ヒトアルファシヌクレインに結合する、レビー小体病の免疫療法に使用することが可能であるヒト化抗体、及び、レビー小体病を有するまたはレビー小体病の危険性のある患者においてシヌクレイン凝集を阻害し、またはレビー小体もしくはシヌクレイン凝集物を低減する方法であり、又、レビー小体型認知症 (DLB) または多系統萎縮症 (MSA) を低減する方法。

【選択図】 なし

**【特許請求の範囲】****【請求項 1】**

配列番号 1 1 の 3 つのカバト C D R を含み、配列番号 1 1 と少なくとも 9 0 % 同一の成熟重鎖可変領域、および、

配列番号 4 の 3 つのカバト C D R を含み、配列番号 4 と少なくとも 9 0 % 同一の成熟軽鎖可変領域

を含むことを特徴とする抗体。

**【請求項 2】**

前記成熟重鎖可変領域は、配列番号 1 0 に指定されるアミノ酸配列を有し、前記成熟軽鎖可変領域は、配列番号 5 に指定されるアミノ酸配列を有することを特徴とする請求項 1 に記載の抗体。

10

**【請求項 3】**

前記成熟重鎖可変領域は、配列番号 1 0 に指定されるアミノ酸配列を有し、前記成熟軽鎖可変領域は、配列番号 3 に指定されるアミノ酸配列を有することを特徴とする請求項 1 に記載の抗体。

**【請求項 4】**

前記成熟重鎖可変領域は、配列番号 8 に指定されるアミノ酸配列を有し、前記成熟軽鎖可変領域は、配列番号 3 に指定されるアミノ酸配列を有することを特徴とする請求項 1 に記載の抗体。

**【請求項 5】**

前記成熟重鎖可変領域は、配列番号 8 に指定されるアミノ酸配列を有し、前記成熟軽鎖可変領域は、配列番号 4 に指定されるアミノ酸配列を有することを特徴とする請求項 1 に記載の抗体。

20

**【請求項 6】**

前記成熟重鎖可変領域は、配列番号 8 に指定されるアミノ酸配列を有し、前記成熟軽鎖可変領域は、配列番号 5 に指定されるアミノ酸配列を有することを特徴とする請求項 1 に記載の抗体。

**【請求項 7】**

前記成熟重鎖可変領域は、配列番号 9 に指定されるアミノ酸配列を有し、前記成熟軽鎖可変領域は、配列番号 3 に指定されるアミノ酸配列を有することを特徴とする請求項 1 に記載の抗体。

30

**【請求項 8】**

前記成熟重鎖可変領域は、配列番号 9 に指定されるアミノ酸配列を有し、前記成熟軽鎖可変領域は、配列番号 4 に指定されるアミノ酸配列を有することを特徴とする請求項 1 に記載の抗体。

**【請求項 9】**

前記成熟重鎖可変領域は、配列番号 9 に指定されるアミノ酸配列を有し、前記成熟軽鎖可変領域は、配列番号 5 に指定されるアミノ酸配列を有することを特徴とする請求項 1 に記載の抗体。

**【請求項 1 0】**

前記成熟重鎖可変領域は、配列番号 1 0 に指定されるアミノ酸配列を有し、前記成熟軽鎖可変領域は、配列番号 4 に指定されるアミノ酸配列を有することを特徴とする請求項 1 に記載の抗体。

40

**【請求項 1 1】**

前記成熟重鎖可変領域は、配列番号 1 1 に指定されるアミノ酸配列を有し、前記成熟軽鎖可変領域は、配列番号 3 に指定されるアミノ酸配列を有することを特徴とする請求項 1 に記載の抗体。

**【請求項 1 2】**

前記成熟重鎖可変領域は、配列番号 1 1 に指定されるアミノ酸配列を有し、前記成熟軽鎖可変領域は、配列番号 4 に指定されるアミノ酸配列を有することを特徴とする請求項 1

50

に記載の抗体。

【請求項 1 3】

前記成熟重鎖可変領域は、配列番号 1 1 に指定されるアミノ酸配列を有し、前記成熟軽鎖可変領域は、配列番号 5 に指定されるアミノ酸配列を有することを特徴とする請求項 1 に記載の抗体。

【請求項 1 4】

前記成熟重鎖可変領域は、配列番号 1 1 と少なくとも 9 5 % 同一であり、前記成熟軽鎖可変領域は、配列番号 4 と少なくとも 9 5 % 同一であることを特徴とする請求項 1 に記載の抗体。

【請求項 1 5】

前記成熟重鎖可変領域は、配列番号 1 1 と少なくとも 9 8 % 同一のアミノ酸配列を有し、前記成熟軽鎖可変領域は、配列番号 4 と少なくとも 9 5 % 同一のアミノ酸配列を有することを特徴とする請求項 1 に記載の抗体。

10

【請求項 1 6】

前記成熟重鎖可変領域は、配列番号 1 1 と少なくとも 9 9 % 同一のアミノ酸配列を有し、前記成熟軽鎖可変領域は、配列番号 4 と少なくとも 9 5 % 同一のアミノ酸配列を有することを特徴とする請求項 1 に記載の抗体。

【請求項 1 7】

前記成熟重鎖可変領域は、配列番号 1 1 のアミノ酸配列を有し、前記成熟軽鎖可変領域は、配列番号 4 と少なくとも 9 5 % 同一のアミノ酸配列を有することを特徴とする請求項 1 に記載の抗体。

20

【請求項 1 8】

前記成熟重鎖可変領域は、配列番号 1 1 と少なくとも 9 5 % 同一のアミノ酸配列を有し、前記成熟軽鎖可変領域は、配列番号 4 と少なくとも 9 8 % 同一のアミノ酸配列を有することを特徴とする請求項 1 に記載の抗体。

【請求項 1 9】

前記成熟重鎖可変領域は、配列番号 1 1 と少なくとも 9 5 % 同一のアミノ酸配列を有し、前記成熟軽鎖可変領域は、配列番号 4 と少なくとも 9 9 % 同一のアミノ酸配列を有することを特徴とする請求項 1 に記載の抗体。

【請求項 2 0】

前記成熟重鎖可変領域は、配列番号 1 1 と少なくとも 9 5 % 同一のアミノ酸配列を有し、前記成熟軽鎖可変領域は、配列番号 4 に指定されるアミノ酸配列を有することを特徴とする請求項 1 に記載の抗体。

30

【請求項 2 1】

前記成熟重鎖可変領域は、配列番号 1 1 と少なくとも 9 8 % 同一のアミノ酸配列を有し、前記成熟軽鎖可変領域は、配列番号 4 と少なくとも 9 8 % 同一のアミノ酸配列を有することを特徴とする請求項 1 に記載の抗体。

【請求項 2 2】

前記成熟重鎖可変領域は、配列番号 1 1 と少なくとも 9 9 % 同一のアミノ酸配列を有し、前記成熟軽鎖可変領域は、配列番号 4 と少なくとも 9 9 % 同一のアミノ酸配列を有することを特徴とする請求項 1 に記載の抗体。

40

【請求項 2 3】

位置 L 3 6 (カバト番号付け) は F によって占められていることを特徴とする請求項 1 に記載の抗体。

【請求項 2 4】

位置 L 8 3 (カバト番号付け) は L によって占められていることを特徴とする請求項 1 に記載の抗体。

【請求項 2 5】

位置 H 7 3 (カバト番号付け) は D によって占められていることを特徴とする請求項 1 に記載の抗体。

50

**【請求項 26】**

位置 H 9 3 (カバト番号付け) は S によって占められていることを特徴とする請求項 1 に記載の抗体。

**【請求項 27】**

位置 H 9 3 (カバト番号付け) は A によって占められていることを特徴とする請求項 1 に記載の抗体。

**【請求項 28】**

位置 L 3 6 (カバト番号付け) は Y または F によって占められ得、位置 L 8 3 (カバト番号付け) は F または L によって占められ得、位置 H 7 3 (カバト番号付け) は N または D によって占められ得、位置 H 9 3 (カバト番号付け) は A または S によって占められ得ることを除いて、前記成熟重鎖可変領域のアミノ酸配列は配列番号 1 1 であり、前記成熟軽鎖可変領域のアミノ酸配列は配列番号 4 であることを特徴とする請求項 1 に記載の抗体。

10

**【請求項 29】**

配列番号 1 1 の 3 つのカバト C D R を含むヒト化重鎖、および、配列番号 4 の 3 つのカバト C D R を含むヒト化軽鎖を含み、ただし、位置 L 3 6 (カバト番号付け) は F によって占められ、および/または、位置 L 8 3 (カバト番号付け) は L によって占められ、および/または、位置 H 7 3 (カバト番号付け) は D によって占められ、および/または、位置 H 9 3 (カバト番号付け) は S によって占められていることを特徴とする抗体。

20

**【請求項 30】**

位置 L 3 6 (カバト番号付け) は F によって占められ、位置 H 7 3 (カバト番号付け) は D によって占められ、位置 H 9 3 (カバト番号付け) は S によって占められていることを特徴とする請求項 2 9 に記載の抗体。

**【請求項 31】**

位置 L 3 6 (カバト番号付け) は F によって占められ、位置 H 9 3 (カバト番号付け) は S によって占められていることを特徴とする請求項 2 9 に記載の抗体。

**【請求項 32】**

位置 L 3 6 (カバト番号付け) は F によって占められ、位置 H 7 3 (カバト番号付け) は D によって占められていることを特徴とする請求項 2 9 に記載の抗体。

30

**【請求項 33】**

位置 H 7 3 (カバト番号付け) は D によって占められ、位置 H 9 3 (カバト番号付け) は S によって占められていることを特徴とする請求項 2 9 に記載の抗体。

**【請求項 34】**

位置 H 9 3 (カバト番号付け) は S によって占められていることを特徴とする請求項 2 9 に記載の抗体。

**【請求項 35】**

位置 H 7 3 (カバト番号付け) は D によって占められていることを特徴とする請求項 2 9 に記載の抗体。

**【請求項 36】**

位置 L 3 6 (カバト番号付け) は F によって占められ、位置 L 8 3 (カバト番号付け) は L によって占められ、位置 H 7 3 (カバト番号付け) は D によって占められ、位置 H 9 3 (カバト番号付け) は S によって占められていることを特徴とする請求項 2 9 に記載の抗体。

40

**【請求項 37】**

位置 L 3 6 (カバト番号付け) は F によって占められ、位置 L 8 3 (カバト番号付け) は L によって占められ、位置 H 9 3 (カバト番号付け) は S によって占められていることを特徴とする請求項 2 9 に記載の抗体。

**【請求項 38】**

位置 L 3 6 (カバト番号付け) は F によって占められ、位置 L 8 3 (カバト番号付け) は L によって占められ、位置 H 7 3 (カバト番号付け) は D によって占められていること

50

を特徴とする請求項 29 に記載の抗体。

【請求項 39】

前記成熟重鎖可変領域は重鎖定常領域に融合し、前記成熟軽鎖定常領域は軽鎖定常領域に融合していることを特徴する請求項 1 ~ 38 のいずれか 1 項に記載の抗体。

【請求項 40】

前記重鎖定常領域は、配列番号 14 に指定されるアミノ酸配列を有し、C 末端リジン残基は省略されてもよいことを特徴とする請求項 39 に記載の抗体。

【請求項 41】

前記軽鎖定常領域は、配列番号 13 に指定されるアミノ酸配列を有することを特徴とする請求項 39 に記載の抗体。

【請求項 42】

前記軽鎖は、配列番号 28 に指定される定常領域を有することを特徴とする請求項 39 に記載の抗体。

【請求項 43】

前記重鎖定常領域は、天然ヒト定常領域に比べてFc 受容体への結合が少ない、天然ヒト定常領域の変異型であることを特徴とする請求項 1 ~ 42 のいずれか 1 項に記載の抗体。

【請求項 44】

前記重鎖定常領域はヒトIgG1 アイソタイプであることを特徴とする請求項 1 ~ 43 のいずれか 1 項に記載の抗体。

【請求項 45】

請求項 1 ~ 44 のいずれか 1 項に規定の成熟重鎖可変領域および / または成熟軽鎖可変領域をコードすることを特徴とする核酸。

【請求項 46】

配列番号 15, 17, 18, 19 および 20 のいずれか 1 つを含む配列を有することを特徴とする請求項 45 に記載の核酸。

【請求項 47】

請求項 45 または 46 の核酸を含むベクターを含むことを特徴とする宿主細胞。

【請求項 48】

シヌクレイン病を有するまたはシヌクレイン病の危険性のある患者を治療する方法であって、請求項 1 ~ 40 のいずれか 1 項に規定の抗体の有効な投与計画を前記患者に実施することを含むことを特徴とする方法。

【請求項 49】

前記患者はレム睡眠行動障害 (RBD) を有することを特徴とする請求項 48 に記載の方法。

【請求項 50】

レビー小体病を有するまたはレビー小体病の危険性のある患者においてレビー小体を検出する方法であって、レビー小体に結合する、請求項 1 ~ 44 のいずれか 1 項に規定の抗体の有効量を前記患者に投与すること、および、前記患者において結合した抗体を検出することを含むことを特徴とする方法。

【請求項 51】

前記抗体は標識されていることを特徴とする請求項 50 に記載の方法。

【請求項 52】

レビー小体病を有するまたはレビー小体病の危険性のある患者においてレビー小体形成を低減する方法であって、請求項 1 ~ 44 のいずれか 1 項に規定の抗体の有効量を前記患者に投与することを含むことを特徴とする方法。

【請求項 53】

レビー小体病を有するまたはレビー小体病の危険性のある患者においてシヌクレイン凝集を阻害し、またはレビー小体もしくはシヌクレイン凝集物を低減する方法であって、請求項 1 ~ 44 のいずれか 1 項に規定の抗体の有効量を前記患者に投与することを含むこと

10

20

30

40

50

を特徴とする方法。

【請求項 5 4】

前記疾患はパーキンソン病であることを特徴とする請求項 4 8 ~ 5 3 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 5 5】

前記疾患は、多系統萎縮症 ( M S A ) またはレビー小体型認知症 ( D L B ) であることを特徴とする請求項 4 8 ~ 5 3 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 5 6】

請求項 1 ~ 4 4 のいずれか 1 項に規定の抗体を含むことを特徴とする医薬組成物。

【請求項 5 7】

抗体を生産する方法であって、前記抗体の重鎖および軽鎖をコードする核酸で形質転換した細胞を培養して、前記細胞に前記抗体を分泌させること、および、細胞培養培地から前記抗体を精製することを含み、前記抗体が請求項 1 ~ 4 4 のいずれか 1 項に規定の抗体であることを特徴とする方法。

【請求項 5 8】

抗体を生産する細胞株を生産する方法であって、分泌可能なマーカーならびに抗体の重鎖および軽鎖をコードするベクターを細胞に導入すること；前記ベクターの複製数が増した細胞を選択する条件で前記細胞を増殖させること；選択した細胞から単一細胞を単離すること、および、抗体の収率に基づいて選択した単一細胞からクローン化した細胞をバンクすることを含み、前記抗体が請求項 1 ~ 4 4 のいずれか 1 項に規定の抗体であることを特徴とする方法。

【請求項 5 9】

選択条件で細胞を増殖させること、および、天然に発現し少なくとも  $100 \text{ mg} / \text{L} / 10^6$  細胞 / 24 時間で分泌する細胞株をスクリーニングすることをさらに含むことを特徴とする請求項 5 8 に記載の方法。

【請求項 6 0】

前記患者における認識機能の低下が阻止されることを特徴とする請求項 4 8 , 5 2 ~ 5 3 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 6 1】

神経突起および / または軸索アルファシヌクレイン凝集物が低減されることを特徴とする請求項 4 8 , 5 2 ~ 5 3 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 6 2】

前記患者における神経突起ジストロフィーが低減されることを特徴とする請求項 4 8 , 5 2 ~ 5 3 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 6 3】

シナプス密度および / または樹状密度が保存されることを特徴とする請求項 4 8 , 5 2 ~ 5 3 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 6 4】

前記患者におけるシナプトフィジンおよび / または M A P 2 を保存することを特徴とする請求項 4 8 , 5 2 ~ 5 3 のいずれか 1 項に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【背景技術】

【0001】

関連出願の参照

本出願は、2011年10月28日出願の米国特許仮出願第61/553,131号および2012年10月8日出願の米国特許仮出願第61/711,208号に基づく優先権を主張し、これらの出願の各々は、あらゆる目的のために、参照によってその全体が組み込まれる。

【0002】

配列リストの参照

10

20

30

40

50

ファイル424859SEQLIST.txtに記載された配列リストは、34キロバイトであり、2012年10月24日に作成された。このファイルに含まれている情報は、参照によって本明細書に組み込まれる。

#### 【0003】

##### 背景技術

レビー小体病(LBD)としても知られるシヌクレイン病は、ドーパミン作動系の変性、運動変化、認識機能障害、ならびに、レビー小体(LB)および/またはレビー神経突起の形成によって特徴付けられる(McKeith et al., Neurology (1996) 47: 1113-24)。シヌクレイン病には、パーキンソン病(特発性パーキンソン病を含む)、レビー小体型認知症(DLB)としても知られるびまん性レビー小体病(DLBD)、レビー小体変異型アルツハイマー病(LBV)、併発アルツハイマー病/パーキンソン病、純粋自律神経不全症、および、多系統萎縮症(MSA;たとえば、オリブ橋小脳変性症、線条体黒質変性症、およびシャイ・ドレーガー症候群)が含まれる。いくつかの非運動兆候および症状が、疾患の前駆期(つまり、発症前期、無症状期、前臨床期またはプレモーター期)におけるシヌクレイン病の前触れであると考えられている。そのような早期兆候には、たとえば、レム睡眠行動障害(RBD)、嗅覚消失および便秘が含まれる(Mahowald et al., Neurology (2010) 75: 488-489)。レビー小体病は、依然として、高齢人口における運動障害および認知力低下の一般的な原因である(Galasko et al., Arch. Neurol. (1994) 51: 888-95)。

10

20

#### 【0004】

アルファシヌクレインは、ベータシヌクレインおよびガンマシヌクレインならびにシノレチンを含むタンパクの大きなファミリーの一部である。アルファシヌクレインは、シナプスに関連する正常な状態で発現し、神経可塑性、学習および記憶において役割を有すると考えられている。アルファシヌクレインがPD発病の主たる役割を有することを、いくつかの研究が示唆している。病的な状態において、このタンパクは凝集して不溶の原繊維を形成し得る。たとえば、シヌクレインはLB中に蓄積する(Spillantini et al., Nature (1997) 388: 839-40; Takeda et al., J. Pathol. (1998) 152: 367-72; Wakabayashi et al., Neurosci. Lett. (1997) 239: 45-8)。アルファシヌクレイン遺伝子における変異は、パーキンソン症候群の希少家族型と共分離する(Kruger et al., Nature Gen. (1998) 18: 106-8; Polymeropoulos, et al., Science (1997) 276: 2045-7)。遺伝子導入マウス(Masliyah et al., Science (2000) 287: 1265-9)およびショウジョウバエ(Feany et al., Nature (2000) 404: 394-8)におけるアルファシヌクレインの過剰発現は、レビー小体病のいくつかの病理的側面によく似た症状を呈する。しかも、シヌクレインの可溶性オリゴマーが、神経毒性を有するかも知れないことが示唆されている(Conway KA, et al., Proc Natl Acad Sci USA (2000) 97: 571-576; Volles MJ, Lansbury PT, Jr Biochemistry (2003) 42: 7871-7878)。ヒト、マウス、ハエなどの多様な種および動物モデルにおける形態学および神経学的変化を伴うアルファシヌクレインの蓄積は、この分子がレビー小体病の進行に寄与することを示唆している。

30

40

##### 【発明の概要】

#### 【0005】

本発明は、配列番号11の3つのカバトCDRを含み、配列番号11と少なくとも90%同一の成熟ヒト化重鎖可変領域、および、配列番号4の3つのカバトCDRを含み、配列番号4と少なくとも90%同一のヒト化軽鎖を含む抗体を提供する。いくつかの抗体において、前記成熟重鎖可変領域は、配列番号11と少なくとも95%、96%、97%、98%または99%同一であり、前記成熟軽鎖可変領域は、配列番号4と少なくとも95

50

% , 96% , 97% , 98% または 99% 同一である。いくつかの抗体において、位置 L 36 (カバト番号付け) は Y または F によって占められ得、位置 L 83 (カバト番号付け) は F または L によって占められ得、位置 H 73 (カバト番号付け) は N または D によって占められ得、位置 H 93 (カバト番号付け) は A または S によって占められ得る。そのような抗体のいくつかにおいて、前記成熟重鎖可変領域のアミノ酸配列は、他の点では、配列番号 11 のアミノ酸配列であり、前記成熟軽鎖可変領域のアミノ酸配列は、他の点では、配列番号 4 のアミノ酸配列である。

【0006】

いくつかの抗体において、前記成熟重鎖可変領域は、配列番号 8 に指定されるアミノ酸配列を有し、前記成熟軽鎖可変領域は、配列番号 3 に指定されるアミノ酸配列を有する。いくつかの抗体において、前記成熟重鎖可変領域は、配列番号 8 に指定されるアミノ酸配列を有し、前記成熟軽鎖可変領域は、配列番号 4 に指定されるアミノ酸配列を有する。いくつかの抗体において、前記成熟重鎖可変領域は、配列番号 8 に指定されるアミノ酸配列を有し、前記成熟軽鎖可変領域は、配列番号 5 に指定されるアミノ酸配列を有する。いくつかの抗体において、前記成熟重鎖可変領域は、配列番号 9 に指定されるアミノ酸配列を有し、前記成熟軽鎖可変領域は、配列番号 3 に指定されるアミノ酸配列を有する。いくつかの抗体において、前記成熟重鎖可変領域は、配列番号 9 に指定されるアミノ酸配列を有し、前記成熟軽鎖可変領域は、配列番号 4 に指定されるアミノ酸配列を有する。いくつかの抗体において、前記成熟重鎖可変領域は、配列番号 9 に指定されるアミノ酸配列を有し、前記成熟軽鎖可変領域は、配列番号 5 に指定されるアミノ酸配列を有する。いくつかの抗体において、前記成熟重鎖可変領域は、配列番号 10 に指定されるアミノ酸配列を有し、前記成熟軽鎖可変領域は、配列番号 3 に指定されるアミノ酸配列を有する。いくつかの抗体において、前記成熟重鎖可変領域は、配列番号 10 に指定されるアミノ酸配列を有し、前記成熟軽鎖可変領域は、配列番号 4 に指定されるアミノ酸配列を有する。いくつかの抗体において、前記成熟重鎖可変領域は、配列番号 10 に指定されるアミノ酸配列を有し、前記成熟軽鎖可変領域は、配列番号 5 に指定されるアミノ酸配列を有する。いくつかの抗体において、前記成熟重鎖可変領域は、配列番号 11 に指定されるアミノ酸配列を有し、前記成熟軽鎖可変領域は、配列番号 3 に指定されるアミノ酸配列を有する。いくつかの抗体において、前記成熟重鎖可変領域は、配列番号 11 に指定されるアミノ酸配列を有し、前記成熟軽鎖可変領域は、配列番号 4 に指定されるアミノ酸配列を有する。いくつかの抗体において、前記成熟重鎖可変領域は、配列番号 11 に指定されるアミノ酸配列を有し、前記成熟軽鎖可変領域は、配列番号 5 に指定されるアミノ酸配列を有する。

【0007】

本発明はさらに、配列番号 11 の 3 つのカバト CDR を含むヒト化重鎖、および、配列番号 4 の 3 つの CDR を含むヒト化軽鎖を含み、ただし、位置 L 36 (カバト番号付け) は F または Y によって占められ、および / または、位置 L 83 (カバト番号付け) は L または F によって占められ、および / または、位置 H 73 (カバト番号付け) は D または N によって占められ、および / または、位置 H 93 (カバト番号付け) は S または A によって占められている抗体を提供する。いくつかのそのような抗体において、位置 L 36 (カバト番号付け) は F によって占められ、位置 H 73 (カバト番号付け) は D によって占められ、位置 H 93 (カバト番号付け) は S によって占められている。いくつかのそのような抗体において、位置 L 36 は F によって占められている。いくつかのそのような抗体において、位置 H 83 は L によって占められている。いくつかのそのような抗体において、位置 H 73 は D によって占められている。いくつかのそのような抗体において、位置 H 93 は A によって占められている。いくつかのそのような抗体において、位置 L 36 は F によって占められ、位置 H 83 は L によって占められている。いくつかのそのような抗体において、位置 L 36 は F によって占められ、位置 H 73 は D によって占められている。いくつかのそのような抗体において、位置 L 36 は F によって占められ、位置 H 93 は A によって占められている。いくつかのそのような抗体において、位置 L 36 は F によって占められ、位置 L 83 は L によって占められ、位置 H 73 (カバト番号付け) は D によって

占められている。いくつかのそのような抗体において、位置 L 3 6 は F によって占められ、位置 L 8 3 は L によって占められ、位置 H 9 3 は A によって占められている。いくつかのそのような抗体において、位置 L 3 6 は F によって占められ、位置 L 8 3 は L によって占められ、位置 H 7 3 は D によって占められ、位置 H 9 3 は A によって占められている。いくつかのそのような抗体において、位置 L 3 6, L 8 3, H 7 3 および H 9 3 (カバト番号付け)の残基は、表 1 に示すアミノ酸によって占められている。いくつかのそのような抗体において、位置 L 3 6 (カバト番号付け)または位置 L 8 3 (カバト番号付け)は F によって占められ、位置 H 7 3 (カバト番号付け)は D によって占められ、位置 H 9 3 (カバト番号付け)は A によって占められている。いくつかのそのような抗体において、位置 L 3 6 (カバト番号付け)は F によって占められ、位置 H 9 3 (カバト番号付け)は S によって占められている。いくつかのそのような抗体において、位置 H 7 3 (カバト番号付け)は D によって占められ、位置 H 9 3 (カバト番号付け)は S によって占められている。いくつかのそのような抗体において、位置 H 7 3 (カバト番号付け)は D によって占められ、位置 H 9 3 (カバト番号付け)は A によって占められている。いくつかのそのような抗体において、位置 H 9 3 (カバト番号付け)は S によって占められている。いくつかのそのような抗体において、位置 H 7 3 (カバト番号付け)は N によって占められている。いくつかのそのような抗体において、位置 L 3 6 (カバト番号付け)は F によって占められ、位置 L 8 3 (カバト番号付け)は L によって占められ、位置 H 7 3 (カバト番号付け)は D によって占められ、位置 H 9 3 (カバト番号付け)は S によって占められている。いくつかのそのような抗体において、位置 L 3 6 (カバト番号付け)は F によって占められ、位置 L 8 3 (カバト番号付け)は L によって占められ、位置 H 9 3 (カバト番号付け)は S によって占められている。

**【0008】**

上記抗体のいずれにおいても、前記成熟重鎖可変領域は重鎖定常領域に融合することができ、前記成熟軽鎖定常領域は軽鎖定常領域に融合することができる。

**【0009】**

上記抗体のいずれにおいても、前記重鎖定常領域は天然ヒト定常領域に比べて F c 受容体への結合が少ない、天然ヒト定常領域の変異型であり得る。

**【0010】**

上記抗体のいずれにおいても、前記重鎖定常領域はヒト I g G 1 アイソタイプであり得る。いくつかの抗体において、前記アロタイプは G 1 m 3 である。いくつかの抗体において、前記アロタイプは G 1 m 1 である。

**【0011】**

本発明はさらに、上述の成熟重鎖可変領域のいずれか、および/または、上述の成熟軽鎖可変領域のいずれかをコードする核酸、たとえば、配列番号 15, 17, 18, 19 および 20 を提供する。

**【0012】**

本発明はさらに、上述の核酸のいずれかを含むベクターを含む宿主細胞を提供する。

**【0013】**

本発明はさらに、レビー小体病を有するまたはレビー小体病の危険性のある患者を治療する方法であって、上述の抗体のいずれかの有効な投与計画を前記患者に実施することを含む方法を提供する。いくつかの方法において、前記疾患はパーキンソン病である。いくつかの方法において、前記患者における認識機能の低下が阻止される。いくつかの方法において、神経突起および/または軸索アルファシヌクレイン凝集物が低減される。いくつかの方法において、前記患者における神経突起ジストロフィーが低減される。いくつかの方法において、シナプスおよび/または樹状密度が保存される。いくつかの方法において、前記患者におけるシナプトフィジンおよび/または M A P 2 が保存される。

**【0014】**

本発明はさらに、シヌクレイン病を有するまたはシヌクレイン病の危険性のある患者を治療する方法であって、上述の抗体のいずれかの有効な投与計画を前記患者に実施するこ

10

20

30

40

50

とを含む方法を提供する。いくつかの方法において、前記疾患はパーキンソン病である。いくつかの方法において、前記疾患はレム睡眠行動障害（RBD）である。いくつかの方法において、前記疾患は、レビー小体型認知症（DLB）または多系統萎縮症（MSA）である。いくつかの方法において、前記患者における認識機能の低下が阻止される。いくつかの方法において、神経突起および/または軸索アルファシヌクレイン凝集物が低減される。いくつかの方法において、前記患者における神経突起ジストロフィーが低減される。いくつかの方法において、シナプスおよび/または樹状密度が保存される。いくつかの方法において、前記患者におけるシナプトフィジンおよび/またはMAP2が保存される。

【0015】

本発明はさらに、レビー小体病を有するまたはレビー小体病の危険性のある患者においてレビー小体を検出する方法であって、レビー小体に結合する上述の抗体のいずれかの有効量を前記患者に投与し、前記患者において結合した抗体を検出することを含む方法を提供する。いくつかの方法において、前記疾患はパーキンソン病である。いくつかの方法において、前記疾患は、レビー小体型認知症（DLB）または多系統萎縮症（MSA）である。いくつかの方法において、前記抗体は標識されている。

【0016】

本発明はさらに、レビー小体病を有するまたはレビー小体病の危険性のある患者においてレビー小体形成を低減する方法であって、上述の抗体のいずれかの有効量を前記患者に投与することを含む方法を提供する。いくつかの方法において、前記疾患はパーキンソン病である。いくつかの方法において、前記疾患は、レビー小体型認知症（DLB）または多系統萎縮症（MSA）である。いくつかの方法において、前記患者における認識機能の低下が阻止される。いくつかの方法において、神経突起および/または軸索アルファシヌクレイン凝集物が低減される。いくつかの方法において、前記患者における神経突起ジストロフィーが低減される。いくつかの方法において、シナプスおよび/または樹状密度が保存される。いくつかの方法において、前記患者におけるシナプトフィジンおよび/またはMAP2が保存される。

【0017】

本発明はさらに、レビー小体病を有するまたはレビー小体病の危険性のある患者においてシヌクレイン凝集を阻害し、またはレビー小体もしくはシヌクレイン凝集物を低減する方法であって、上述の抗体のいずれかの有効量を前記患者に投与することを含む方法を提供する。いくつかの方法において、前記疾患はパーキンソン病である。いくつかの方法において、前記疾患は、レビー小体型認知症（DLB）または多系統萎縮症（MSA）である。いくつかの方法において、前記患者における認識機能の低下が阻止される。いくつかの方法において、神経突起および/または軸索アルファシヌクレイン凝集物が低減される。いくつかの方法において、前記患者における神経突起ジストロフィーが低減される。いくつかの方法において、シナプスおよび/または樹状密度が保存される。いくつかの方法において、前記患者におけるシナプトフィジンおよび/またはMAP2が保存される。

【0018】

本発明はさらに、上述の抗体のいずれかを含む医薬組成物を提供する。

【0019】

本発明はさらに、抗体を生産する方法であって、前記抗体の重鎖および軽鎖をコードする核酸で形質転換した細胞を培養して、前記細胞に前記抗体を分泌させること、および、細胞培養培地から前記抗体を精製することを含み、前記抗体が上述の抗体のいずれかである方法を提供する。

【0020】

本発明はさらに、抗体を産生する細胞株を生産する方法であって、抗体の重鎖および軽鎖をコードするベクターならびに分泌可能なマーカーを細胞に導入すること；前記ベクターの複製数が増した細胞を選択する条件で前記細胞を増殖させること；選択した細胞から単一細胞を単離すること、および、選択した単一細胞から抗体の収率に基づいてクローン

10

20

30

40

50

化した細胞をバンクすることを含み、前記抗体が上述の抗体のいずれかである方法を提供する。いくつかのそのような方法は、選択条件で細胞を増殖させること、および、天然に発現し少なくとも  $100 \text{ mg/L} / 10^6$  細胞 / 24 時間で分泌する細胞株をスクリーニングすることをさらに含む。

【図面の簡単な説明】

【0021】

【図1】ヒト化9E4重鎖成熟可変領域を有する親マウスmAb (m9E4ともいう) アミノ酸配列の整合を示す図。1791009Hu9E4VHFr (配列番号7) はヒト受容体V<sub>H</sub>配列である。カバトの定義によるCDR領域を、下線を付し太字で示す。

【0022】

【図2】ヒト化9E4軽鎖成熟可変領域を有する親マウスmAb (m9E4ともいう) アミノ酸配列の整合を示す図。63102889Hu9E4VLFr (配列番号2) はヒト受容体V<sub>L</sub>配列である。カバトの定義によるCDR領域を、下線を付し太字で示す。

【0023】

【図3】モリス水迷路試験のプロープ部分における記憶力に対する9E4での受動免疫療法の結果を示す図。

【0024】

【図4】ラウンドビームテストにおける速さおよびエラーに対する9E4での受動免疫療法の結果を示す図。

【0025】

【図5】罹患組織から採取した抗原に対するヒト化9E4抗体の種々のバージョンの免疫沈降を示す図。Ch9E4:キメラ9E4; H1L3:Hu9E4VHv1-Hu9E4VLv3; H3L2:Hu9E4VHv3-Hu9E4VLv2; H3L3:Hu9E4VHv3-Hu9E4VLv3; N.S.=非特異的。

【0026】

【図6】マウス抗体、キメラ抗体およびヒト化9E4抗体での組み換えヒトシヌクレインのウエスタンプロットを示す図。

【発明を実施するための形態】

【0027】

配列の簡単な説明

配列番号1は、m9E4VL可変領域のアミノ酸配列である。

【0028】

配列番号2は、63102889Hu9E4VLFr可変領域のアミノ酸配列である。

【0029】

配列番号3は、Hu9E4VLv1可変領域のアミノ酸配列である。

【0030】

配列番号4は、Hu9E4VLv2可変領域のアミノ酸配列である。

【0031】

配列番号5は、Hu9E4VLv3可変領域のアミノ酸配列である。

【0032】

配列番号6は、m9E4VH可変領域のアミノ酸配列である。

【0033】

配列番号7は、1791009Hu9E4VHFr可変領域のアミノ酸配列である。

【0034】

配列番号8は、Hu9E4VHv1可変領域のアミノ酸配列である。

【0035】

配列番号9は、Hu9E4VHv2可変領域のアミノ酸配列である。

【0036】

配列番号10は、Hu9E4VHv3可変領域のアミノ酸配列である。

【0037】

10

20

30

40

50

- 配列番号 1 1 は、H u 9 E 4 V H v 4 可変領域のアミノ酸配列である。  
【 0 0 3 8 】
- 配列番号 1 2 は、天然ヒト野生型アルファシヌクレインのアミノ酸配列である。  
【 0 0 3 9 】
- 配列番号 1 3 は、N末端にアルギニンを有する、ヒト化 9 E 4 軽鎖定常領域のアミノ酸配列である。  
【 0 0 4 0 】
- 配列番号 1 4 は、ヒト化 9 E 4 重鎖定常領域のアミノ酸配列である。  
【 0 0 4 1 】
- 配列番号 1 5 は、H u 9 E 4 V L v 1 可変領域のヌクレオチド配列である。 10  
【 0 0 4 2 】
- 配列番号 1 6 は、H u 9 E 4 V L v 2 可変領域のヌクレオチド配列である。  
【 0 0 4 3 】
- 配列番号 1 7 は、H u 9 E 4 V L v 3 可変領域のヌクレオチド配列である。  
【 0 0 4 4 】
- 配列番号 1 8 は、H u 9 E 4 V H v 1 可変領域のヌクレオチド配列である。  
【 0 0 4 5 】
- 配列番号 1 9 は、H u 9 E 4 V H v 2 可変領域のヌクレオチド配列である。  
【 0 0 4 6 】
- 配列番号 2 0 は、H u 9 E 4 V H v 3 可変領域のヌクレオチド配列である。 20  
【 0 0 4 7 】
- 配列番号 2 1 は、H u 9 E 4 V H v 4 可変領域のヌクレオチド配列である。  
【 0 0 4 8 】
- 配列番号 2 2 は、H u 9 E 4 V L シグナルペプチドのアミノ酸配列である。  
【 0 0 4 9 】
- 配列番号 2 3 は、H u 9 E 4 V L シグナルペプチドのヌクレオチド配列である。  
【 0 0 5 0 】
- 配列番号 2 4 は、H u 9 E 4 V H シグナルペプチドのアミノ酸配列である。  
【 0 0 5 1 】
- 配列番号 2 5 は、H u 9 E 4 V H シグナルペプチドのヌクレオチド配列である。 30  
【 0 0 5 2 】
- 配列番号 2 6 は、H u 9 E 4 V L コンセンサスアミノ酸配列である。  
【 0 0 5 3 】
- 配列番号 2 7 は、H u 9 E 4 V H コンセンサスアミノ酸配列である。  
【 0 0 5 4 】
- 配列番号 2 8 は、N末端にアルギニンを有しない、ヒト化 9 E 4 軽鎖定常領域のアミノ酸配列である。  
【 0 0 5 5 】
- 配列番号 2 9 は、( a ) 可変領域、および、( b ) N末端にアルギニンを有する定常領域を含むバージョン 3 ヒト化 9 E 4 軽鎖のアミノ酸配列である。 40  
【 0 0 5 6 】
- 配列番号 3 0 は、( a ) 可変領域、および、( b ) N末端にアルギニンを有しない定常領域を含むバージョン 3 ヒト化 9 E 4 軽鎖のアミノ酸配列である。  
【 0 0 5 7 】
- 配列番号 3 1 は、可変領域および定常領域を含むバージョン 3 ヒト化 9 E 4 重鎖のアミノ酸配列である。  
【 0 0 5 8 】
- 配列番号 3 2 は、ヒト化 9 E 4 重鎖 G 1 m 3 アロタイプ定常領域の B I P バージョンのアミノ酸配列である。  
【 0 0 5 9 】 50

## 定義

モノクローナル抗体は、一般に、単離型で提供される。これは、抗体が、一般に、その産生または精製で生じるタンパクおよび他の高分子から、少なくとも50% w/w 純粋であるが、モノクローナル抗体が、その使用を容易にするための、医薬的に許容される過剰の担体または他の媒体と、組み合わせられる可能性を排除するものではない。いくつかのモノクローナル抗体は、産生または精製由来のタンパクおよび他の高分子から、少なくとも60%、70%、80%、90%、95%または99% w/w 純粋である。

## 【0060】

モノクローナル抗体のその標的抗原への特異的結合とは、少なくとも $10^6$ 、 $10^7$ 、 $10^8$ 、 $10^9$ 、または $10^{10} \text{ M}^{-1}$ の親和性を意味する。特異的結合は、少なくとも1つの関連のない標的に対して生じる非特異的結合よりも、程度が検出可能に高く、非特異的結合から区別される。非特異的結合は、通常、ファンデルワールス力の結果であるが、特異的結合は、特定の官能基間の結合または特定の空間的合致（たとえば、鍵と鍵穴型）の形成の結果であり得る。ただし、特異的結合は、モノクローナル抗体が1つの標的のみに結合することを必ずしも意味しない。

10

## 【0061】

基本的な抗体構造ユニットは、サブユニットの四量体である。各四量体は、2つの同一のポリペプチド鎖対を含み、各対は1つの「軽」（約25 kDa）鎖および「重」（約50~70 kDa）鎖を有する。各鎖のアミノ末端部分は、抗原認識に主要な関与をする、約100~110個またはそれより多数のアミノ酸の可変領域を含む。この可変領域は、最初、開裂可能なシグナルペプチドに連結して発現される。シグナルペプチドを有しない可変領域は、成熟可変領域と呼ばれることもある。したがって、たとえば、軽鎖成熟可変領域は、軽鎖シグナルペプチドを有しない軽鎖可変領域を意味する。各鎖のカルボキシ末端部分は、エフェクター機能に主要な関与をする定常領域を規定する。

20

## 【0062】

軽鎖は、カッパまたはラムダのいずれかに分類される。重鎖は、ガンマ、ミュー、アルファ、デルタまたはイプシロンに分類され、それぞれ、抗体アイソタイプをIgG、IgM、IgA、IgDまたはIgEと規定する。軽鎖および重鎖において、可変領域および定常領域は、約12個またはそれより多数のアミノ酸の「J」領域によって結合されており、重鎖は、約10個またはそれより多数のアミノ酸の「D」領域も含む（概して、Fundamental Immunology (Paul, W., ed., 2nd ed. Raven Press, N.Y., 1989), Ch. 7を参照、あらゆる目的のために、参照によってその全体が組み込まれる)。

30

## 【0063】

軽鎖/重鎖の各対の成熟可変領域は、抗体結合部位を形成する。したがって、抗体全体は、2つの結合部位を有する。二機能性抗体または二重特異性抗体を除いて、2つの結合部位は同じである。鎖はすべて、相補性決定領域またはCDRとも呼ばれる3つの超可変領域によって連結され、比較的保存されている同じ一般構造のフレームワーク領域(FR)を示す。各対の2つの鎖からのCDRは、フレームワーク領域によって整合され、これにより特異的エピトープへの結合が可能になっている。N末端からC末端に向かって、軽鎖および重鎖の両者は、FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3およびFR4のドメインを含む。各ドメインへのアミノ酸の割り当ては、カバトの定義、Sequences of Proteins of Immunological Interest (National Institutes of Health, Bethesda, MD, 1987 and 1991)、または、Chothia & Lesk, J. Mol. Biol. 196:901-917 (1987); Chothia et al., Nature 342:878-883 (1989)に従う。カバトはまた、異なる重鎖間または異なる軽鎖間の対応する残基が、同じ番号を割り当てられる、広く使用されている番号付け規則(カバト番号付け)を提供している(たとえば、H83は成熟重鎖可変領域におけるカバト番号付けでの位置83を意味し、同様に、L36は成熟軽鎖可変領域にお

40

50

けるカバト番号付けでの位置36を意味する)。

【0064】

「抗体」の用語は、無傷の抗体およびその結合フラグメントを包含する。一般に、フラグメントは、別個の重鎖、軽鎖、Fab, Fab', F(ab')<sub>2</sub>, F(ab)<sub>2</sub>, ダイアボディ, Dabs, ナノボディ, およびFvを含み、標的への特異的結合について、由来元である無傷の抗体と競合する。フラグメントは、組み換えDNA技術によって、または、無傷の抗体の酵素的もしくは化学的分離によって、生成することができる。「抗体」の用語は、また、二重特異性抗体および/またはヒト化抗体を包含する。二重特異性抗体また二機能性抗体は、2つの異なる重鎖/軽鎖対および2つの異なる結合部位を有する、人工のハイブリッド抗体である(たとえば、Songsivilai and Lachmann, Clin. Exp. Immunol., 79:315-321(1990); Kostelny et al., J. Immunol. 148:1547-53(1992)を参照)。いくつかの二重特異性抗体において、2つの異なる重鎖/軽鎖対には、ヒト化9E4重鎖/軽鎖対、および、9E4が結合するものとは異なるアルファシヌクレイン上のエピトープに特異的な重鎖/軽鎖対が含まれる。ヒト化抗体は、下記のIVBの欄で概説する。

10

【0065】

「エピトープ」の用語は、抗体が結合する抗原上の部位を指す。エピトープは、連続アミノ酸、または、1つ以上のタンパクの三次折り畳みによって並置された不連続アミノ酸で形成され得る。連続アミノ酸から形成されるエピトープは、一般に、変性溶媒に曝されても維持され、一方、三次折り畳みで形成されるエピトープは、一般に、変性溶媒での処理で失われる。エピトープは、一般に、少なくとも3個、より普通には、少なくとも5個または8~10個の、独特の立体コンフォメーションのアミノ酸を含む。エピトープの立体コンフォメーションを決定する方法には、たとえば、X線結晶学および2次元核磁気共鳴が含まれる。たとえば、Epitope Mapping Protocols, in Methods in Molecular Biology, Vol. 66, Glenn E. Morris, Ed. (1996)を参照。

20

【0066】

同じまたは重複するエピトープを認識する抗体は、標的抗原への他の抗体の結合に競合する1つの抗体の能力を示す、単純な免疫アッセイで同定され得る。抗体のエピトープは、抗原に結合した抗体の接触残基を同定するための、X線結晶学によっても同定され得る。これに代えて、2つの抗体は、一方の抗体の結合を低減または消去する、抗原におけるすべてのアミノ酸変異が、他方の結合を低減または消去する場合、同じエピトープを有する。2つの抗体は、一方の抗体の結合を低減または消去するいくつかのアミノ酸変異が、他方の結合を低減または消去する場合、重複するエピトープを有する。

30

【0067】

抗体間の競合は、試験中の抗体が共通の抗原への対照抗体の特異的結合を阻害するアッセイにおいて決定される(たとえば、Jungmans et al., Cancer Res. 50:1495, 1990を参照)。過剰の試験抗体(たとえば、少なくとも2x, 5x, 10x, 20xまたは100x)が、競合結合アッセイで測定して、対照抗体の結合を少なくとも50%、ただし好ましくは75%, 90%または99%阻害する場合、試験抗体は対照抗体と競合する。競合アッセイで規定される抗体(競合抗体)には、対照抗体と同じエピトープに結合する抗体、および、立体障害が生じるに足るほど、対照抗体が結合するエピトープに近い隣接エピトープに結合する抗体が含まれる。

40

【0068】

「患者」の用語は、予防処置または治療処置を受けるヒトおよび他の哺乳類対象を包含する。

【0069】

アミノ酸置換を保存的または非保存的として分類する目的で、アミノ酸は次のようにグループ分けされる: グループI(疎水性側鎖): met, ala, val, leu, il

50

e ; グループ II (中性親水性側鎖) : c y s , s e r , t h r ; グループ III (酸性側鎖) : a s p , g l u ; グループ IV (塩基性側鎖) : a s n , g l n , h i s , l y s , a r g ; グループ V (鎖配向に影響する残基) : g l y , p r o ; および、グループ VI (芳香族側鎖) : t r p , t y r , p h e 。 保存的置換には、同じクラスのアミノ酸間での置換が含まれる。非保存的置換は、いずれか1つのクラスの要素を、他のクラスの要素と交換することから成る。

【0070】

配列同一性割合は、カバト番号付け規則によって、最大に整合される抗体配列で決定される。整合化の後、対象抗体領域(たとえば、重鎖または軽鎖の成熟可変領域全体)が対照抗体の同じ領域と比較される場合、対象抗体領域と対照抗体領域との配列同一性割合は、対象抗体領域と対照抗体領域の双方において同じアミノ酸が占める位置の数を、両領域の整合させた位置のギャップを除外した総数で割り、百分率に変換するために、100を乗じたものである。

10

【0071】

1つ以上の明記した要素を「含む」組成物または方法は、明記していない他の要素を含んでよい。たとえば、抗体を含む組成物は、その抗体を、単独で、または他の含有物と組み合わせ、有してよい。

【0072】

値の範囲の指定には、その範囲に入るまたはその範囲を規定するすべての整数、および、その範囲内の整数によって規定される部分範囲が含まれる。

20

【0073】

文脈からそうではないことが明らかでない限り、「約」の用語は、記載値の平均値標準誤差内の値を包含する。

【0074】

個体は、対象が、少なくとも1つの既知の危険因子(たとえば、遺伝子的、生化学的、家族歴、環境曝露)であって、その危険因子を有しない個体よりも、その危険因子を有する個体を、統計的に有意に大きい疾患発症の危険度に置く危険因子を有する場合、疾患の危険度が上昇する。

【0075】

「症状」の用語は、患者によって認識される、歩行変調などの、疾患の主観的証拠を指す。「兆候」は、医師によって観察される疾患の客観的証拠を指す。

30

【0076】

統計的有意性は、 $p < 0.05$ を意味する。

【0077】

「認識機能」とは、注意、記憶、言語の生成および理解、問題解決、ならびに、周囲および自己ケアに関心を持つことなどの、いくつかのまたはすべての精神処理を指す。

【0078】

「向上した認識機能」または「改善した認識機能」とは、診断または治療の開始などの基準に対する向上を指す。「認識機能の低下」とは、そのような基準に対する機能の低下を指す。

40

【0079】

ラットまたはマウスなどの動物モデルシステムにおいて、認識機能は、対象が空間情報を使用する迷路(モリス水迷路、バーンズ円形迷路、高架式放射状迷路、T迷路など)、恐怖条件付け、能動的回避、照明オープンフィールド、暗所活動度計、高架式十字迷路、2コンパートメント探索試験、または、強制水泳試験などを使用する方法によって、測定してよい。

【0080】

ヒトにおいて、認識機能は、いくつかの標準試験のうちの1つ以上によって、測定することが可能である。認識機能の試験またはアッセイの例は記載されており(Ruoppi la, I. and Suutama, T. Scand. J. Soc. Med. Suppl

50

. 53, 44 - 65, 1997)、それには、標準心理試験(たとえば、Wechsler Memory Scale, the Wechsler Adult Intelligence Scale, Raven's Standard Progressive Matrices, Schaie-Thurstone Adult Mental Abilities Test)、神経心理検査(たとえば、Luria-Nebraska)、メタ認知自己評価(たとえば、Metamemory Questionnaire)、視覚空間アッセイ試験(たとえば、Poppelreuter's Figures, Clock Recognition, Honeycomb Drawing and Cancellation)、認識アッセイ試験(たとえば、Folstein's Mini Mental State Test)、および、反応時間検査が含まれる。他の認識能力の標準試験には、アルツハイマー病評価尺度の認知機能評価尺度(ADAS-cog); 全般的臨床症状評価(CIBIC-plus scale); アルツハイマー病共同研究の日常生活動作の評価(ADCS-ADL); ミニメンタルステート検査(MMSE); 神経精神症状評価法(NPI); 臨床的認知症重症度判定尺度(CDR); ケンブリッジ神経心理学自動検査バッテリー(CANTAB)、または、Sandoz臨床評価-老人病(SCAG)、ストループ検査、トレイルメイキング、ウェクスラー数字復唱検査(Wechsler Digit Span)、および、CogStateコンピュータ化認識試験が含まれる。さらに、認識機能は、陽電子放出断層撮影(PET)、機能的磁気共鳴画像法(fMRI)、単光子放射型コンピュータ断層撮影法(SPECT)、または、脳機能の測定を可能にする他のあらゆるイメージング技術などの、イメージング技術を用いて測定してもよい。

#### 【0081】

発明の詳細な説明

##### I. 概説

本発明は、ヒト化9E4抗体を提供する。この抗体はレビー小体病の治療および診断に有用である。

#### 【0082】

##### II. 標的分子

天然ヒト野生型アルファシヌクレインは、次のアミノ酸配列を有する140個のアミノ酸のペプチドである:

MDVFMKGLSK AKEGVVA AAE KTKQGV AEA A GKTK EGV L  
YV GSKTK EGVVH GVA TVAEKTK EQVTNVGGAV VTGVTA  
VAQK TVEGAGSIAA ATGFVKKDQL GKNEEGAPQE GILE  
DMPVDP DNEAYEMPSE EGYQDYEPEA (配列番号12)。

(Ueda et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA (1993) 90: 11282-6); GenBank 受託番号: P37840)。このタンパクは広く認められた3つのドメイン、つまり、アミノ酸1~61にわたるKTKE繰返しドメイン、おおよそアミノ酸60~95にわたるNAC(非アミロイド成分)ドメイン、および、おおよそアミノ酸98~140にわたるC末端酸性ドメイン、を有する。

#### 【0083】

文脈からそうではないことが明らかでない限り、アルファシヌクレインまたはそのフラグメントへの言及は、上に示した天然ヒト野生型アミノ酸配列、および、そのヒト対立遺伝子変異型、特にレビー小体病に関連するもの(たとえば、E46K, A30PおよびA53T; ここで、最初の文字は配列番号12におけるアミノ酸を表し、数字は配列番号12における位置であり、2番目の文字は対立遺伝子変異型におけるアミノ酸である)を含む。このような変異型は、随意的に、以下に記載する本発明のいずれかの特徴において、個別にまたは組み合わせで存在し得る。アルファシヌクレイン凝集を増進する誘発変異E83Q, A90V, A76Tも、また、個別に、または、互いにならびに/もしくはヒト対立遺伝子変異型E46K, A30PおよびA53Tとの組み合わせで存在し得る。

#### 【0084】

III. レビー小体病

10

20

30

40

50

レビー小体病 (LBD) は、ドーパミン作動系の変性、運動変化、認識機能障害、および、レビー小体 (LB) の形成によって特徴付けられる (McKeith et al., *Neurology* (1996) 47: 1113 - 24)。レビー小体は、神経細胞に見られる球状タンパク沈着物である。脳におけるそれらの存在は、アセチルコリンおよびドーパミンを含む化学伝達物質の作用を遮断して、脳の正常な機能を妨害する。レビー小体病には、パーキンソン病 (特発性パーキンソン病を含む)、レビー小体型認知症 (DLB) としても知られるびまん性レビー小体病 (DLBD)、レビー小体変異型アルツハイマー病 (LBV)、併発アルツハイマー病/パーキンソン病、および、多系統萎縮症 (MSA; たとえば、オリブ橋小脳変性症、線条体黒質変性症、およびシャイ・ドレーガー症候群) が含まれる。DLDB は、アルツハイマー病およびパーキンソン病の双方と症状が同じである。DLDB は、主としてレビー小体の位置においてパーキンソン病と異なる。DLDB では、レビー小体は皮質に生じる。パーキンソン病では、レビー小体は黒質に生じる。他のレビー小体病には、純粹自律神経不全症、レビー小体嚥下障害、偶発性 LBD、および、遺伝性 LBD (たとえば、アルファシヌクレイン遺伝子、PARK3 および PARK4 の突然変異) が含まれる。

10

## 【0085】

## IV. 本発明の抗体

## A. 結合特異性および機能特性

本発明のヒト化抗体は、ヒトアルファシヌクレインに特異的に結合する。いくつかのヒト化抗体の親和性 (つまり、Ka) は、好ましくは、マウス抗体 9E4 の親和性の 5 倍または 2 倍の範囲内である。いくつかのヒト化抗体は、マウス 9E4 抗体の親和性と同じ (実験誤差内で) 以上の親和性を有する。好ましいヒト化抗体は、ヒトアルファシヌクレインへの結合について、マウス抗体 9E4 と、同じエピトープに結合しおよび/または競合する。

20

## 【0086】

いくつかの抗体において、ヒト化 9E4 は、二重特異性抗体の 1 つのアームを形成し、その抗体の他方のアームは、インシュリン受容体、インシュリン様成長因子 (IGF) 受容体、レプチン受容体、もしくは、リポタンパク受容体、または、好ましくは、トランスフェリン受容体などの、血液脳関門に発現される受容体に結合する抗体である (Friden et al., *PNAS* 88: 4771 - 4775, 1991; Friden et al., *Science* 259: 373 - 377, 1993)。このような二重特異性抗体は、受容体媒介トランスサイトーシスによって血液脳関門を横切って移送され得る。二重特異性抗体の脳への取り込みは、血液脳関門受容体への親和性を低下させるように二重特異性抗体を操作することによって、さらに増大させることができる。受容体に対する親和性の低下の結果、脳における分布がより広くなる (たとえば、Atwal et al. *Sci. Trans. Med.* 3, 84ra43, 2011; Yu et al. *Sci. Trans. Med.* 3, 84ra44, 2011 を参照)。

30

## 【0087】

例示的な二重特異性抗体は、(1) 各々の軽鎖および重鎖が、短いペプチド連結部を介して 2 つの可変ドメインを直列に有する、二重可変ドメイン抗体 (DVD-Ig (商標)) (Wu et al., *Generation and Characterization of a Dual Variable Domain Immunoglobulin (DVD-Ig (商標)) Molecule*, In: *Antibody Engineering*, Springer Berlin Heidelberg (2010)); (2) 2 つの一本鎖ダイアボディが融合して、標的抗原の各々に対して 2 つの結合部位を有する 4 価の二重特異性抗体になったタンダブ (Tandab); (3) scFv がダイアボディと組み合わせさせて、多価分子となったフレキシボディ (flexibody); (4) Fab に適用されたとき、異なる Fab フラグメントに連結した 2 つの同一の Fab フラグメントから成る 3 価の二重特異性結合タンパクを生成する、プロテインキナーゼ A における「二量化およびドッキングドメイン」に基づく、いわゆる「ドックアンドロック (dock and lock)」分子

40

50

; (5) たとえば、ヒトFc領域の両末端に融合した2つのscFvを含む、いわゆるスコルピオン分子(Scorpion molecule)、でもあり得る。二重特異性抗体の調製に有用なプラットフォームの例には、BiTE (Micromet), DART (MacroGenics), FcabおよびMab2 (F-star), Fc操作IgG1 (Xencor) またはDuoBody (Fabアーム交換に基づく, Genmab) が含まれるが、これらに限られない。

#### 【0088】

##### B. ヒト化抗体

ヒト化抗体は、非ヒト「ドナー」抗体からのCDRがヒト「アクセプター」抗体配列に移植されている、遺伝子操作された抗体である(たとえば、US 5, 530, 101および5, 585, 089; Winter, US 5, 225, 539, Carter, US 6, 407, 213, Adair, US 5, 859, 2056, 881, 557, Foote, US 6, 881, 557を参照)。アクセプター抗体配列は、たとえば、成熟ヒト抗体可変領域配列、そのような配列の複合体、ヒト抗体配列のコンセンサス配列(たとえば、前記カバト、1991の軽鎖可変領域コンセンサス配列および重鎖可変領域コンセンサス配列)、または、生殖細胞系可変領域配列であり得る。重鎖について、好ましいアクセプター配列は、NCBI受託コードAAC50998 (GI: 1791009)を有するヒト成熟重鎖可変領域、生殖細胞系IGHV3-7'01もしくはIGHV3-7'02(クローン名V3-7もしくはVH3-11) (Glas et al., Clin Exp Immunol. 107: 372-80, 1997)に由来する他の成熟重鎖可変領域、または、これらの生殖細胞系配列のうちの1つを組み込んだ成熟重鎖可変領域配列である。軽鎖について、好ましいアクセプター配列は、NCBI受託コードAAV33350 (GI: 63102889)を有する軽鎖成熟可変領域、生殖細胞系IGKV1D-39もしくはIGKV1-39(クローン名O2もしくはO12) (Kramer et al., Eur J Immunol. 35: 2131-45, 2005)に由来する他の成熟軽鎖配列、または、これらの生殖細胞系配列のうちの1つを組み込んだ軽鎖成熟可変領域配列である。したがって、本発明のヒト化抗体は、ドナー9E4抗体に由来する、カバトによって規定される3つの軽鎖CDRおよび3つの重鎖CDR、ならびに、存在する場合、完全にまたは実質的にヒト抗体配列に由来する、成熟可変領域フレームワーク配列および定常領域、を有する抗体である。同様に、ヒト化重鎖は、9E4抗体の重鎖に由来する、カバトによって規定される3つの重鎖CDR、ならびに、存在する場合、完全にまたは実質的にヒト抗体重鎖配列に由来する、成熟重鎖可変配列および重鎖定常領域配列、を有する重鎖である。同様に、ヒト化軽鎖は、9E4抗体の軽鎖に由来する、カバトによって規定される3つの軽鎖CDR、ならびに、存在する場合、完全にまたは実質的にヒト抗体軽鎖配列に由来する、成熟軽鎖可変配列および軽鎖定常領域配列、を有する軽鎖である。抗体鎖の成熟可変領域フレームワーク配列または抗体鎖の定常領域配列は、カバトによって規定される対応する残基の少なくとも85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%または100%が同一のとき、それぞれ、ヒト成熟可変領域フレームワーク配列またはヒト定常領域配列に、実質的に由来する。

#### 【0089】

ヒト成熟可変領域フレームワーク残基に由来するアミノ酸には、CDRコンフォメーションおよび/または抗原への結合に影響を及ぼすそれらの可能性に基づいて、置換のために選択し得るものがある。そのような影響の可能性は、モデル化すること、特定位置のアミノ酸の特性を試験すること、特定アミノ酸の置換または変異の影響を実験的に観察すること、によって調べられる。

#### 【0090】

たとえば、マウス成熟可変領域フレームワーク残基と選択したヒト成熟可変領域フレームワーク残基とでアミノ酸が異なるとき、ヒトフレームワークアミノ酸は、そのアミノ酸が、

(1) 非共有結合で抗原に直接結合する、

10

20

30

40

50

(2) CDR領域に隣接する、

(3) 他の態様でCDR領域と相互作用する(たとえば、CDR領域の約6以内に位置する)、

(4) 重鎖と軽鎖との相互作用を媒介する

と合理的に期待できるときには、マウス抗体由来の等価なフレームワークアミノ酸で置換することができる。

【0091】

本発明は、3つの例示的ヒト化軽鎖成熟可変領域(Hu9E4VLv1~v3; 配列番号3~5)および4つの例示的ヒト化重鎖成熟可変領域(Hu9E4VHv1~v4; 配列番号: 8~11)を含む、マウス9E4抗体のヒト化型を提供する。配列番号4は、マウス9E4軽鎖の3つのカバトCDR、および、AA Y33350の成熟可変領域フレームワークを含む。配列番号3および5は、表2に示す復帰突然変異を含む。配列番号11は、マウス9E4の3つのカバトCDR、および、AAC50998の成熟可変領域フレームワークを含む。配列番号8~10は、表3に示す復帰突然変異を含む。

10

【0092】

本発明は、ヒト化重鎖成熟可変領域が、配列番号8~11に対して少なくとも90%, 95%または99%の同一性を示し、ヒト化軽鎖成熟可変領域が、配列番号3~5に対して少なくとも90, 95または99%の配列同一性を示すが、カバトCDR以外の成熟可変領域フレームワークにおいて、指定した配列番号からの変異が生じている、ヒト化9E4抗体の変異型を提供する。いくつかのそのような抗体において、位置L36はYまたはFによって占められ、および/または、位置L83はFまたはLによって占められ、および/または、位置H73はNまたはDによって占められ、および/または、位置H93はAまたはSによって占められている(ここでのすべての位置は、本出願の他所と同様に、カバト番号付けによる)。いくつかのそのような抗体において、Hu9E4VLv1~v3およびHu9E4VHv1~v4における復帰突然変異のいくつかまたはすべてが、保持されている。換言すると、重鎖位置H73およびH93の一方または両方は、それぞれ、DおよびAによって占められている。同様に、いくつかの抗体において、軽鎖位置L36およびL83の一方または両方は、それぞれ、FおよびLによって占められている。いくつかの抗体において、位置H73, H93, L36およびL83の1つ、2つ、3つまたは4つすべては、それぞれ、D, A, FおよびLによって占められている。いくつかの抗体において、重鎖成熟可変領域フレームワークの0, 1つまたは2つの位置は、配列番号11と比べて変化しており、軽鎖成熟可変領域フレームワークの0, 1つまたは2つの位置は、配列番号4と比べて変化している。

20

30

【0093】

いくつかの抗体は、位置L36(カバト番号付け)がFまたはYで占められ、および/または、位置L83(カバト番号付け)がLまたはFで占められ、および/または、位置H73(カバト番号付け)がDまたはNで占められ、および/または、位置H93(カバト番号付け)がSまたはAで占められていることを条件に、配列番号11の3つのカバトCDRを含むヒト化重鎖、および、配列番号4の3つのカバトCDRを含むヒト化軽鎖を含む。いくつかのそのような抗体において、位置L36(カバト番号付け)は、Fによって占められている。いくつかのそのような抗体において、位置L36(カバト番号付け)はFによって占められ、位置L83(カバト番号付け)はLによって占められている。いくつかのそのような抗体において、位置L36(カバト番号付け)はFによって占められ、位置H73(カバト番号付け)はDによって占められている。いくつかのそのような抗体において、位置L36(カバト番号付け)はFによって占められ、位置H93(カバト番号付け)はSによって占められている。いくつかのそのような抗体において、位置L36(カバト番号付け)はFによって占められ、位置H93(カバト番号付け)はAによって占められている。いくつかのそのような抗体において、位置L36(カバト番号付け)はFによって占められ、位置L83(カバト番号付け)はLによって占められ、位置H73(カバト番号付け)はDによって占められている。いくつかのそのような抗体において

40

50

、位置 L 3 6 (カバト番号付け) は F によって占められ、位置 L 8 3 (カバト番号付け) は L によって占められ、位置 H 9 3 (カバト番号付け) は S によって占められている。いくつかのそのような抗体において、位置 L 3 6 (カバト番号付け) は F によって占められ、位置 L 8 3 (カバト番号付け) は L によって占められ、位置 H 9 3 (カバト番号付け) は A によって占められている。いくつかのそのような抗体において、位置 L 3 6 (カバト番号付け) は F によって占められ、位置 H 7 3 (カバト番号付け) は D によって占められ、位置 H 9 3 (カバト番号付け) は S によって占められている。いくつかのそのような抗体において、位置 L 3 6 (カバト番号付け) は F によって占められ、位置 L 8 3 (カバト番号付け) は L によって占められ、位置 H 7 3 (カバト番号付け) は D によって占められ、位置 H 9 3 (カバト番号付け) は S によって占められている。いくつかのそのような抗体において、位置 L 3 6 (カバト番号付け) は F によって占められ、位置 L 8 3 (カバト番号付け) は L によって占められ、位置 H 7 3 (カバト番号付け) は D によって占められ、位置 H 9 3 (カバト番号付け) は A によって占められている。いくつかのそのような抗体において、位置 L 8 3 (カバト番号付け) は L によって占められ、位置 H 7 3 (カバト番号付け) は D によって占められ、位置 H 9 3 (カバト番号付け) は S によって占められている。いくつかのそのような抗体において、位置 L 8 3 (カバト番号付け) は L によって占められ、位置 H 9 3 (カバト番号付け) は A によって占められている。いくつかのそのような抗体において、位置 L 8 3 (カバト番号付け) は L によって占められ、位置 H 7 3 (カバト番号付け) は D によって占められ、位置 H 9 3 (カバト番号付け) は S によって占められている。いくつかのそのような抗体において、位置 L 8 3 (カバト番号付け) は L によって占められ、位置 H 7 3 (カバト番号付け) は D によって占められ、位置 H 9 3 (カバト番号付け) は A によって占められている。いくつかのそのような抗体において、位置 H 9 3 (カバト番号付け) は S によって占められている。いくつかのそのような抗体において、位置 H 9 3 (カバト番号付け) は A によって占められている。いくつかのそのような抗体において、位置 L 3 6 は Y によって占められ、位置 L 8 3 は F によって占められ、位置 H 7 3 は N によって占められ、位置 H 9 3 は S によって占められている。位置 L 3 6 , L 8 3 , H 7 3 および H 9 3 に好ましい残基を有する、および、それらの組み合わせを有する、いくつかの例示的な抗体を、次の表1に示す。

10

20

30

40

## 【表 1】

位置L36, L83, H73およびH93 (カボト番号付け) に好ましい残基を有する例示的な抗体

例示的抗体	L36	L83	H73	H93
1	F	F	N	A
2	F	L	N	A
3	F	F	D	A
4	F	F	N	S
5 (バージョン3)	F	L	D	A
6	F	L	N	S
7 (バージョン1)	F	F	D	S
8	F	L	D	S
9	Y	L	N	A
10	Y	L	D	A
11	Y	L	N	S
12	Y	L	D	S
13	Y	F	D	A
14	Y	F	D	S
15 (バージョン2)	Y	F	N	S

10

## 【0094】

20

いくつかの抗体において、重鎖成熟可変領域は、配列番号10に指定されるアミノ酸配列を有している。いくつかの抗体において、軽鎖成熟可変領域は、配列番号5または配列番号3に指定されるアミノ酸配列を有している。いくつかのそのような抗体において、重鎖成熟可変領域は、配列番号10に指定されるアミノ酸配列を有し、軽鎖成熟可変領域は、配列番号5または配列番号3に指定されるアミノ酸配列を有している。いくつかのそのような抗体において、重鎖成熟可変領域は、配列番号10に指定されるアミノ酸配列を有し、軽鎖成熟可変領域は、配列番号5に指定されるアミノ酸配列を有している。

## 【0095】

他のアミノ酸置換を、成熟可変領域フレームワークにおいて、たとえば、CDRと接触しない残基において、実施することができる。変異体ヒト化配列になされる置換は、置き換えられるアミノ酸に関して保存的であることが多い。いくつかの抗体において、Hu9E4VLv1~v3およびHu9E4VHv1~v4に対する置換は(保存的であるか否かによらず)、Hu9E4VLv1~v3およびHu9E4VHv1~v4と比べて、結果の抗体の結合親和性または能力、つまり、ヒトアルファシヌクレインに結合する能力に、実質的に影響しない。

30

## 【0096】

変異体は、一般に、Hu9E4VLv1~v3およびHu9E4VHv1~v4の重鎖成熟可変領域配列および軽鎖成熟可変領域配列とは、(一般には、軽鎖もしくは重鎖成熟可変領域フレームワークまたは両者における1, 2, 3, 5または10以下の)少数の置換、削除または挿入において、相違する。

40

## 【0097】

## C. 定常領域の選択

ヒト化抗体の重鎖可変領域および軽鎖可変領域は、ヒト定常領域の少なくとも一部に連結し得る。定常領域の選択は、抗体依存性細胞媒介細胞障害、抗体依存性細胞捕食、および/または、補体依存性細胞傷害が、必要であるかどうかによって部分的には決まる。たとえば、ヒトアイソタイプIgG1およびIgG3は、補体依存性細胞傷害を有し、ヒトアイソタイプIgG2およびIgG4は有しない。ヒトIgG1およびIgG3は、また、細胞媒介性エフェクター機能を、ヒトIgG2およびIgG4よりも強く誘導する。軽鎖定常領域はラムダまたはカッパであり得る。例示的なヒト軽鎖カッパ定常領域は、配列番号13のアミノ酸配列を有する。いくつかのそのような軽鎖カッパ定常領域は、核酸配

50

列によってコードされ得る。配列番号13のN末端アルギニンは省略可能であるが、その場合、軽鎖カッパ定常領域は、配列番号28のアミノ酸配列を有する。いくつかのそのような軽鎖カッパ定常領域は、核酸配列によってコードされ得る。例示的ヒトIgG1重鎖定常領域は、配列番号14のアミノ酸配列を有する（C末端リジンを有することも有しないこともある）。いくつかのそのような重鎖定常領域は、核酸配列によってコードされ得る。抗体は、2つの軽鎖および2つの重鎖を含む四量体として、別個の重鎖、軽鎖として、Fab, Fab', F(ab')<sub>2</sub>およびFvとして、または、重鎖成熟可変ドメインおよび軽鎖成熟可変ドメインがスパーサ-を介して連結した一本鎖抗体として、発現し得る。

#### 【0098】

ヒト定常領域は、異なる個体間で、アロタイプ変異および同型アロタイプ変異を示し、つまり、定常領域は、異なる個体において、1つ以上の多型位置にて相違し得る。同型アロタイプは、同型アロタイプを認識する血清が1つ以上の他のアイソタイプの非多型領域に結合する点で、アロタイプと異なる。したがって、たとえば、他の重鎖定常領域は、IgG1 G1m3アロタイプであり、配列番号32のアミノ酸配列を有する。さらに他の重鎖定常領域は、C末端リジンを欠くことを除いて、配列番号32のアミノ酸配列を有する。

#### 【0099】

軽鎖および/または重鎖のアミノ末端もしくはカルボキシ末端の1個もしくは数個のアミノ酸、たとえば、重鎖のC末端リジンなどは、一部またはすべての分子において、欠けているか誘導体化されていてよい。補体依存性細胞傷害もしくはADCCなどのエフェクター機能を増大もしくは減少させるために（たとえば、Winter et al., US Patent No. 5,624,821; Tso et al., US Patent No. 5,834,597; および Lazar et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 103:4005, 2006を参照）、または、ヒトにおける半減期を長くするために（たとえば、Hinton et al., J. Biol. Chem. 279:6213, 2004を参照）、定常領域において置換を行うことができる。例示的な置換には、抗体の半減期を増すための、位置250のGlnおよび/または位置428（この段落において、定常領域にEU番号付けを使用する）のLeuが含まれる。位置234, 235, 236および/または237のいずれかの置換は、Fc受容体、特にFcRI受容体に対する親和性を減少させる（たとえば、US 6,624,821を参照）。いくつかの抗体は、エフェクター機能を減少させるために、ヒトIgG1の位置234, 235および237に、アラニン置換を有する。随意的に、ヒトIgG2の位置234, 236および237はアラニンで置換され、位置235はグルタミンで置換される（たとえば、US 5,624,821を参照）。

#### 【0100】

##### D. 組み換え抗体の発現

抗体は、組み換え発現によって産生することができる。抗体をコードする核酸は、所望の細胞型（たとえば、CHOまたはSp2/0）での発現のために、コドン最適化することが可能である。組み換え核酸構造物は、一般に、天然会合領域または異種プロモータ領域を含む、抗体鎖のコドン配列に操作可能に連結された発現制御配列を含む。発現制御配列は、真核宿主細胞を変換または移入することが可能なベクターにおける真核プロモータ系であり得る。ベクターが適当な宿主に導入されると、宿主はヌクレオチド配列の高レベル発現、ならびに交差反応抗体の採集および精製に適する条件下に保たれる。抗体鎖をコードするベクターは、抗体鎖をコードする核酸の複製数を増大させるために、ジヒドロ葉酸還元酵素などの、選択可能な遺伝子も包含し得る。

#### 【0101】

大腸菌は、抗体、特に抗体フラグメント、を発現するために特に有用な原核宿主である。酵母などの微生物も発現に有用である。サッカロミセスは、発現制御配列、複製起点、終止配列などを希望どおり有する、好適なベクターを備えた好ましい酵母宿主である。一

10

20

30

40

50

一般的なプロモータは、3-ホスホグリセリン酸キナーゼおよび他の糖分解酵素を含む。誘導性酵母は、とりわけ、アルコール脱水素酵素、イソチトクロームCに由来するプロモータ、ならびに、マルトースおよびガラクトースの利用に寄与する酵素を含む。

#### 【0102】

哺乳類細胞は、免疫グロブリンまたはそのフラグメントをコードするヌクレオチド区分を発現するために、使用することが可能である。Winnacker, From Genes to Clones, (VCH Publishers, NY, 1987)を参照。無傷の異種タンパクを分泌することが可能な多くの好適な宿主細胞株が、当技術分野において開発されており、それには、CHO細胞株、種々のCOS細胞株、ヒラ細胞、HEK293細胞、L細胞、ならびに、Sp2/0およびNS0を含む非ヒト抗体産生骨髓腫が含まれる。非ヒト細胞を使用することが、有利であり得る。これらの細胞のための発現ベクターは、発現制御配列、複製起点、プロモータ、エンハンサー(Queen et al., Immunol. Rev. 89:49(1986))、ならびに、リボソーム結合部位、RNAプライス部位、ポリアデニル化部位および転写終結配列などの、必要な処理情報部位を含み得る。好適な発現制御配列は、内在性遺伝子、サイトメガロウイルス、SV40、アデノウイルス、ウシパピローマウイルスなどに由来するプロモータである。Coetal., J. Immunol. 148:1149(1992)を参照。

10

#### 【0103】

抗体の重鎖および軽鎖をコードする誘導ベクターを細胞培養に導入した後、細胞プールを、無血清培地における生産性向上および製品品質についてスクリーニングすることができる。次いで、最高生産性の細胞プールをFACS系単一細胞クローニングに付して、モノクローナル株を生成することができる。7.5g/L培地を超える生産力価に相当する、細胞当たり1日当たり50pgまたは100pgを超える比生産性が、有益であり得る。単一細胞クローンによって産生される抗体は、濁度、ろ過特性、PAGE、IEF、UVスキャン、HP-SEC、糖-オリゴ糖マッピング、質量分析、および、ELISAまたはBiacoreなどの結合アッセイについて、試験することもできる。その後、選択されたクローンは、後の使用のために、多数のバイアルに入れて蓄え、冷凍貯蔵することができる。

20

#### 【0104】

一旦発現すると、抗体は、プロテインA捕捉、カラムクロマトグラフィー(たとえば、疎水性相互作用またはイオン交換)、ウイルス不活性化のための低pHなどを含む、当技術分野における標準的な手順に従って精製することができる(一般に、Scopes, Protein Purification(Springer-Verlag, NY, 1982)を参照)。

30

#### 【0105】

抗体の商業的生産の方法には、コドン最適化、プロモータ、転写要素および停止剤の選択、無血清単一細胞クローニング、細胞パンキング、複製数増大のための選択マーカーの使用、CHO終止剤、無血清単一細胞クローニング、タンパク力価の向上が含まれる(たとえば、US5,786,464, US6,114,148, US6,063,598, US7,569,339, WO2004/050884, WO2008/012142, WO2008/012142, WO2005/019442, WO2008/107388, WO2009/027471, およびUS5,888,809を参照)。

40

#### 【0106】

##### V. 核酸

本発明は、さらに、上述の重鎖および軽鎖のいずれかをコードする核酸を提供する。一般に、これらの核酸は、成熟重鎖および成熟軽鎖に融合したシグナルペプチド(たとえば、配列番号23および25によってコードされ得る、配列番号22および24のアミノ酸配列を有するシグナルペプチド)もコードする。核酸上のコード化配列は、そのコード化配列の発現を確実にするために、プロモータ、エンハンサー、リボソーム結合部位、転写終結シグナルなどの、制御配列と操作可能に連結することができる。重鎖および軽鎖をコ

50

ードする核酸は、単離型で存在することができ、または、1つ以上のベクターにクローン化することができる。核酸は、たとえば、固相合成または重複オリゴヌクレオチドのPCRによって、合成することが可能である。重鎖および軽鎖をコードする核酸は、たとえば発現ベクター内で、1つの連続核酸として一緒にすることができ、または、別個にして、たとえば、各々それ自体の発現ベクターにクローン化することができる。

#### 【0107】

##### VI. 治療への適用

本発明は、レビー小体病を患っているまたはレビー小体病の危険性のある患者における、その疾患の治療または効果的な予防のいくつかの方法を提供する。治療に適する患者には、LBDの疾患の危険性があるが症状を示していない個体のほか、シヌクレイン病の症状、または、たとえば、EEG低速化、精神神経兆候（抑鬱、痴呆、幻覚、不安、無関心、快感消失）、自律神経系の変化（起立性低血圧、膀胱障害、便秘、便失禁、流涎、嚥下困難、性機能不全、脳血流の変化）、感覚の変化（嗅覚、痛覚、色識異常感覚）、睡眠障害（レム睡眠行動障害（RBD）、レストレスレッグス症候群/周期性四肢運動、睡眠過剰、不眠）、ならびに、さまざまな他の兆候および症状（疲労、複視、視朦、脂漏、体重減少/増加）などの、シヌクレイン病の初期の危険な兆候を現在示している患者が含まれる。したがって、本方法は、LBDの遺伝的危険性のあることが判っている個体に、予防的に施すことができる。そのような個体には、この疾患の経験者、および、遺伝的または生化学的マーカーの分析で危険性が判断された個体が含まれる。PDに対する危険性の遺伝的マーカーには、アルファシヌクレイン遺伝子、または、パーキン、UCHL1およびCYP2D6遺伝子における突然変異、特に、アルファシヌクレイン遺伝子の位置30および53における突然変異、が含まれる。現在パーキンソン病を患っている個体は、安静時振戦、筋硬直、運動緩慢および姿勢不安定を含むその臨床症状から、認定することが可能である。

10

20

#### 【0108】

無症状の患者においては、治療はどの年齢（たとえば、10、20、30歳）でも開始することができる。しかし、通常、患者が40、50、60または70歳に達するまで、治療を開始する必要はない。治療は、一般に、ある期間にわたって複数の投与を必要とする。治療は、抗体、または、治療剤（たとえば、アルファシヌクレインペプチドの切断型）に対する活性化T細胞もしくはB細胞の反応、を長期にわたってアッセイすることによって、監視することが可能である。反応が低下する場合、ブースター投与が示唆される。

30

#### 【0109】

抗体は、患者に有益な治療反応（たとえば、神経突起および/または軸索アルファシヌクレイン凝集物の減少、神経突起ジストロフィーの減少、認識機能の改善、および/または、認識低下の逆転、治療もしくは防止）を生じる条件下で投与することによって、患者におけるレビー小体病の治療または有効な予防に使用することができる。いくつかの方法において、新皮質および/または基底核の神経網における神経突起ジストロフィーの面積は、治療した患者では、対照集団と比較して、平均で少なくとも10%、20%、30%または40%低減することが可能である。

40

#### 【0110】

認識機能障害、認識機能の進行性の低下、脳形態の変化および脳血管機能の変化は、レビー小体病を患っているまたはレビー小体病の危険性のある患者において、普通に見られる。本発明の抗体の投与は、そのような患者における認識機能の低下を阻止または遅延させることができる。

#### 【0111】

本発明は、また、シナプス密度および/または樹状突起密度を保存または増加させる方法も提供する。シナプス密度または樹状突起密度の変化の指標は、シナプス形成のマーカー（シナプトフィジン）および/または樹状突起のマーカー（MAP2）によって測定することができる。いくつかの方法において、シナプス密度または樹状突起密度の変化の指標は、健康な対象におけるシナプス密度または樹状突起密度のレベルまで回復することが

50

可能である。いくつかの方法において、治療を受けた患者のシナプス密度または樹状突起密度のレベルは、治療を受けなかった対照患者の集団と比べて5%、10%、15%、20%、25%、30%以上上昇し得る。

#### 【0112】

#### VII. 医薬組成物および処理の方法

予防用途においては、抗体もしくは抗体を誘導するための薬剤または同様の医薬組成物は、疾患に感染し易いまたは疾患の危険性のある患者に、その疾患の兆候もしくは症状の少なくとも1つの危険性を低減し、重症度を軽減し、または、発現を遅らせるのに有効な投与計画（投与の用量、頻度および経路）で投与される。いくつかの予防用途において、投与計画は、アルファシヌクレインおよび切断フラグメントの脳内の蓄積を、妨げもしくは遅れさせ、および/または、その有毒作用を妨げもしくは遅れさせ、および/または、行動の欠陥の進行を妨げおよび/もしくは遅れさせるのに有効である。治療用途においては、抗体または抗体を誘導する薬剤は、レビー小体病の疑いのあるまたはレビー小体病を既に患っている患者に、その疾患の兆候もしくは症状の少なくとも1つを改善し、または、少なくともさらなる悪化を防止するのに有効な投与計画（投与の用量、頻度および経路）で投与される。いくつかの治療用途において、投与計画は、毒性および/もしくは行動の欠陥に関連するアルファシヌクレインおよび切断フラグメントのレベルを低減し、または、少なくともさらなる増加を妨げるのに有効である。

10

#### 【0113】

投与計画は、処理を受けた個々の患者が、本発明の方法で処理されない同等の患者の対照集団における平均の転帰よりも、好ましい転帰を遂げる場合に、または、比較臨床試験（たとえば、第II相、第II/III相、または第III相試験）において、被処理患者対対照患者に、 $p < 0.05$ もしくは $0.01$ またはさらに $0.001$ のレベルで、より好ましい転帰が示される場合に、治療上または予防上、有効であると認められる。

20

#### 【0114】

有効な用量は、投与の方法、対象部位、レビー小体病の種類を含む患者の生理状態、患者がApoE保有者であるか、患者がヒトであるか動物であるか、投与される他の薬物、および、処理が予防であるか治療であるか、を含む多くの因子に応じて変動する。

#### 【0115】

抗体についての例示的な用量範囲は、患者の体重に基づき、 $0.01 \sim 5 \text{ mg/kg}$ であり、より普通には、 $0.1 \sim 3 \text{ mg/kg}$ 、 $0.15 \sim 2 \text{ mg/kg}$ または $0.15 \sim 1.5 \text{ mg/kg}$ である。抗体は、そのような用量を、毎日、隔日、毎週、隔週、毎月、毎四半期、または、経験的分析によって定める他のあらゆるスケジュールに従って、投与することができる。例示的処理は、たとえば少なくとも6ヶ月の、長期間にわたる複数の用量での投与を必要とする。追加の例示的処理計画は、2週に1回、1ヶ月に1回、または3~6ヶ月に1回の投与を必要とする。

30

#### 【0116】

抗体は、末梢経路、つまり、投与されたまたは誘導された抗体が、血液脳関門を横切って脳内の意図する部位に達する経路で、投与することが可能である。投与経路には、局所、静脈内、経口、皮下、動脈内、頭蓋内、髄腔内、腹腔内、鼻腔内、または筋肉内が含まれる。抗体についてのいくつかの投与経路は、静脈内および皮下である。この種の注射は、腕または脚の筋肉になされるのがもっとも一般的である。いくつかの方法において、薬剤は、沈着が生じている特定の組織に直接注射され、たとえば、頭蓋内注射である。

40

#### 【0117】

非経口投与のための医薬組成物は、無菌で実質的に等張であり、GMP条件下で製造することができる。医薬組成物は、単位用量形態（つまり、単回投与のための用量）で提供することができる。医薬組成物は、1つ以上の、生理的に許容可能な担体、希釈剤、賦形剤または助剤を用いて製剤化することが可能である。製剤は選択される投与経路に依存する。注射については、抗体は、水溶液で、好ましくは、ハンス液、リンゲル液、生理食塩水、または酢酸緩衝液などの生理的に許容される緩衝液中で（注射部位の不快感低減の

50

ため)、製剤することができる。溶液は、懸濁剤、安定剤および/または分散剤などの製剤化剤を含有することができる。これに代えて、抗体は、滅菌した発熱性物質非含有水などの好適な媒体で使用前に調製するために、凍結乾燥の形態とすることもできる。

【0118】

本投与計画は、処理する疾患の治療または予防において有効な他の薬剤と組み合わせて、施すことが可能である。たとえば、パーキンソン病の場合、アルファシヌクレインに対する免疫療養剤 WO/2008/103472、レボドパ、ドーパミン作動薬、COMT阻害剤、MAO-B阻害剤、アマタジン、または、抗コリン剤を、本投与計画と組み合わせて使用することができる。

【0119】

VIII. 他の適用

上述の抗体は、臨床診断もしくは治療に関連して、または研究において、アルファシヌクレインを検出するために使用することができる。抗体は、また、アルファシヌクレインをもつ細胞、および、様々な刺激に対するそれらの応当の検出における実験室研究用の研究試薬として、販売することも可能である。そのような使用では、モノクローナル抗体は、蛍光分子、スピラベル分子、酵素またはラジオアイソトープで標識することが可能であり、アルファシヌクレインのアッセイを行うために必要なすべての試薬を備えるキットの形態で、提供することができる。抗体は、アルファシヌクレインを、たとえば、アフィニティクロマトグラフィーによって、精製するために使用することもできる。

【0120】

抗体は、患者においてLBを検出するのに使用することができる。そのような方法は、PD、もしくは脳におけるLBの存在に関連する他の疾患、もしくはそれに対する罹患し易さを診断し、または、診断を確認するのに有用である。たとえば、前記方法は、認知症の症状を呈している患者に使用することが可能である。患者がLBを有している場合、その患者は、おそらく、パーキンソン病などのレビー小体病を患っている。前記方法は、また、無症状の患者に使用することもできる。レビー小体の存在またはアルファシヌクレインの他の異常沈着は、症状性疾患に対する将来の罹患し易さを示す。前記方法は、また、レビー小体病を有すると診断されたことのある患者における、疾患の進行および/または治療に対する応答を監視するためにも有用である。

【0121】

前記方法は、抗体を投与し、次いで、抗体が結合した後に抗体を検出することによって、実施することが可能である。望まれる場合、消失応答は、Fabなどの、完全長定常領域を欠く抗体フラグメントを使用することによって、避けることが可能である。いくつかの方法において、同じ抗体が治療薬および診断試薬の双方として機能する。

【0122】

診断(たとえば、インビボ造影)のためには、抗体は、静脈注射によって患者の身体に、または、脳内投与によって、もしくは、頭蓋骨を貫通する孔を開けることによって、直接脳に投与することができる。試薬の用量は、治療法と同じ範囲内とすべきである。一般に抗体は標識されるが、いくつかの方法においては、抗体は標識されず、抗体に結合する2次標識剤が使用される。標識の選択は、検出の手段に依存する。たとえば、光学的検出には蛍光標識が適している。外科的介入なしでの断層検出には常磁性標識の使用が適する。PETまたはSPECTを使用して放射性標識を検出することも可能である。

【0123】

診断は、標識された場所の数、大きさおよび/または強度を、それぞれの基準値と比較することによって行われる。基準値は、罹患していない個体の集団における平均のレベルを代表し得る。基準値は、同じ患者において決定した先のレベルを代表することもできる。たとえば、基準値は、治療前の患者において決定することができ、その後の測定値はその基準値と比較することができる。基準に対する値の低下は、治療に対する陽性の応答を示唆する。

【0124】

10

20

30

40

50

抗体は、抗イディオタイプ抗体を生成するために使用することが可能である（たとえば、Greenspan & Bona, FASEB J. 7(5): 437-444, 1989; および Nissinoff, J. Immunol. 147: 2429-2438, 1991を参照）。このような抗イディオタイプ抗体は、その抗体で処理された個体における臨床ヒト抗ヒト抗体（H A H A）応答の研究のほか、薬物動態研究、薬力学研究、生体内分布研究に利用することができる。たとえば、抗イディオタイプ抗体は、ヒト化9E4抗体の可変領域に特異的に結合し、したがって、薬物動態研究においてヒト化9E4抗体を検出するのに使用することが可能であり、処理を受けた個体におけるヒト抗ヒト抗体（H A H A）応答を定量化するのに役立つ。

#### 【0125】

上記または下記で引用するすべての特許出願、ウェブサイト、他の出版物、受託番号などは、個々の各項目が、あらゆる目的のために参照によって全体が取り込まれると、具体的かつ個別に示されているのと同様に、あらゆる目的のために参照によって全体が取り込まれる。配列の異なるバージョンが異なる時点で受託番号に関連付けられている場合、本出願の有効出願日の受託番号に関連付けられたバージョンを意味する。有効出願日は、実際の出願日、または、該当する場合、受託番号に言及する優先出願の出願日の、早い方を意味する。同様に、出版、ウェブサイトなどの異なるバージョンが異なる時点で公開されている場合、そうでないと示されない限り、本出願の出願日における最新公開のバージョンを意味する。本発明の、あらゆる特徴、ステップ、要素、実施形態、または側面は、具体的にそうでないと示されない限り、他のいずれとも組み合わせ使用することが可能である。本発明を、明瞭化および理解のために、図面および例を用いてある程度詳しく説明したが、添付の特許請求の範囲内で、ある程度の変更および修正を実施してもよいことが、明らかであろう。

#### 【実施例】

#### 【0126】

##### 実施例 I . ヒト化9E4抗体の設計

ヒト化の開始点つまりドナー抗体は、ATCC受託番号PTA-8221を有し、米国特許出願第11/710,248（公開番号第2009/0208487号）に記載されているハイブリドーマによって産生される、マウス抗体9E4である。9E4の可変カッパ（V<sub>κ</sub>）は、ヒトカバトサブグループ1に対応するマウスカバトサブグループ1に属する。9E4の可変重鎖（V<sub>h</sub>）は、ヒトカバトサブグループ3に対応するマウスカバトサブグループ3dに属する（Kabata et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, NIH Publication No. 91-3242, 1991）。本実施例の全体を通じて、カバト番号付けを使用する。

#### 【0127】

V<sub>κ</sub>において、17残基CDR-L1は標準クラス3に属し、7残基CDR-L2はクラス1に属し、9残基CDR-L3はクラス1に属する（Martin & Thornton, J Mol Biol. 263: 800-15, 1996）。5残基CDR-H1はクラス1に属し、17残基CDR-H2はクラス2に属する（Martin & Thornton, J Mol Biol. 263: 800-15, 1996）。CDR-H3は、標準クラスを有しないが、7残基ループは、おそらく、Shiraiら（FEBS Lett. 455: 188-97, 1999）の規則に従ってねじれた基部を有する。

#### 【0128】

9E4の大まかな構造モデルを提供する構造を見出すべく、PDBデータベースのタンパク配列を調査した（Deshpande et al., Nucleic Acids Res. 33: D233-7, 2005）。二量体抗体X836（pdbコード3MBX）（Teplyakov et al, Mol Immunol., 47(14): 2422-6, 2010）が、良好な分解能（1.6Å）と9E4への全体的な配列類似性を有し、ループについて同じ標準構造を保っていたので、これをV<sub>κ</sub>構造として選択した。1H

10

20

30

40

50

3P (Pizarro et al., FEBS Lett. 509:463-8, 2001) を Vh 構造として使用した。これは、良好な全体的配列類似性と妥当な分解能 (2.6 Å) を有しており、ねじれた基部と同じ長さの CDR-H3 も有していた。さらに、CDR-1 および CDR-H2 は、9E4 Vh と同じ標準構造を有していた。DeepView / Swiss-PdbViewer 3.7 (SP5) (Guex and Peitsch, Electrophoresis 18:2714-2723, 1997) を、構造モデル化に使用した。

【0129】

NCBI からの非冗長タンパク配列データベースを調査することにより、マウス CDR を移植する好適なヒトフレームワークの選択が可能になった。V として、NCBI 受託コード AAY33350 (GI:63102889) (Kramer et al., Eur J Immunol. 35:2131-45, 2005) を有するヒトカッパ軽鎖を選択した。これは、CDR-L2 および CDR-L3 について、9E4 と同じ標準クラスを有し、IMGT 規約によるヒト生殖系列 IGKV1D-39 または IGKV1-39 (クローン名 O2 または O12) に属する。これは、カバトヒトカッパサブグループ 1 の一員である。Vh として、NCBI 受託コード AAC50998 (GI:1791009) (Glas et al., Clin Exp Immunol. 107:372-80, 1997) を有するヒト Ig 重鎖を選択したが、これも、9E4 と同じ標準クラスを有し、ヒト生殖系列IGHV3-7'01 または IGHV3-7'02 (クローン名 V3-7 または VH3-11) に属する。これは、カバトヒト重鎖サブグループ 3 の一員である。

10

20

【0130】

ヒトアクセプター可変領域フレームワークとマウスドナー可変領域フレームワークとで異なる次の位置を、復帰突然変異の候補として特定した。H73 は、抗原結合部位の端に位置し、CDR-H2 と相互作用する。H93 は、CDR-H1 ループおよび CDR-H3 ループの下方に位置するインターフェイス残基である。L36 は、V / Vh インターフェイス残基である。L83 は、定常ドメインに近接している。9E4 においては、L83 はロイシンであるが、ヒトフレームワークにおいては、L83 は、より大きいアミノ酸のフェニルアラニンである。

【0131】

これらの位置の異なる順列に復帰突然変異を取り込んで、3つのヒト化重鎖および3つのヒト化軽鎖を作製した (図1A、図1B、配列アラインメント、および表2、表3)。

30

【表2】

V<sub>H</sub>復帰突然変異

V <sub>H</sub> 変異体:	V <sub>H</sub> エクソンアクセプター配列	ドナーフレームワーク残基
Hu9E4VHv1	NCBI受託コード AAC50998	H73, H93
Hu9E4VHv2	NCBI受託コード AAC50998	H93
Hu9E4VHv3	NCBI受託コード AAC50998	H73

40

【表 3】

V<sub>L</sub>復帰突然変異

V <sub>L</sub> 変異体	V <sub>L</sub> エクソンアクセプター配列	ドナーフレームワーク残基
Hu9E4VLv1	NCBI受託コード AAY33350	L36
Hu9E4VLv2	NCBI受託コード AAY33350	None
Hu9E4VLv3	NCBI受託コード AAY33350	L36, L83

10

## 【0132】

9E4V バージョン 1

DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKSIQTLLEYSSNQKNYLA  
WFQQKPKGKAPKLLIYWASIRKSGVPSRFSGSGSGTDFTLT  
 ISSLQPEDFATYYCQQYYSYPLTFGGGTKLEIK (配列番号 3)

20

## 【0133】

9E4V バージョン 2

DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKSIQTLLEYSSNQKNYLA  
 WYQQKPKGKAPKLLIYWASIRKSGVPSRFSGSGSGTDFTLT  
 ISSLQPEDFATYYCQQYYSYPLTFGGGTKLEIK (配列番号 4)

## 【0134】

9E4V バージョン 3

DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKSIQTLLEYSSNQKNYLA  
 WFQQKPKGKAPKLLIYWASIRKSGVPSRFSGSGSGTDFTLT  
 ISSLQPEDLATYYCQQYYSYPLTFGGGTKLEIK (配列番号 5)

30

## 【0135】

9E4vh バージョン 1

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTFSNYGMSWVRQA  
 PGKGLEWVASISSGGGSTYYPDNVKGRFTISRDDAKNSLY  
 LQMNSLRAEDTAVYYCSRGGAGIDYWGGTGLVTVSS (配列番  
 号 8)。

## 【0136】

9E4vh バージョン 2

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTFSNYGMSWVRQA  
 PGKGLEWVASISSGGGSTYYPDNVKGRFTISRDNAAKNSLY  
 LQMNSLRAEDTAVYYCSRGGAGIDYWGGTGLVTVSS (配列番  
 号 9)。

40

## 【0137】

9E4vh バージョン 3

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTFSNYGMSWVRQA  
 PGKGLEWVASISSGGGSTYYPDNVKGRFTISRDDAKNSLY  
 LQMNSLRAEDTAVYYCARGGAGIDYWGGTGLVTVSS (配列番

50

号10)。

【0138】

AAY33350 軽鎖およびAAC50998 重鎖のカバト番号付けを次に示す。

【0139】

AAY33350 軽鎖のカバト番号付け：

L1 D L2 I L3 Q L4 M L5 T L6 Q L7 S L8 P L9 S  
 L10 S L11 L L12 S L13 A L14 S L15 V L16 G  
 L17 D L18 R L19 V L20 T L21 I L22 T L23 C L  
 24 R L25 A L26 S L27 Q L28 S L29 I L30 S L3  
 1 S L32 Y L33 L L34 N L35 W L36 Y L37 Q L38 10  
 Q L39 K L40 P L41 G L42 K L43 A L44 P L45 K  
 L46 L L47 L L48 I L49 Y L50 A L51 A L52 S  
 L53 S L54 L L55 Q L56 S L57 G L58 V L59 P L  
 60 S L61 R L62 F L63 S L64 G L65 S L66 G L6  
 7 S L68 G L69 T L70 D L71 F L72 T L73 L L74  
 T L75 I L76 S L77 S L78 L L79 Q L80 P L81 E  
 L82 D L83 F L84 A L85 T L86 Y L87 Y L88 C  
 L89 Q L90 Q L91 S L92 Y L93 S L94 T L95 P L  
 96 L L97 T L98 F L99 G L100 G L101 G L102 T  
 L103 K L104 L L105 E L106 I L107 K L108 - 20  
 L109 - L110 - L111 -。

【0140】

AAC50998 重鎖のカバト番号付け：

H1 E H2 V H3 Q H4 L H5 V H6 E H7 S H8 G H9 G  
 H10 G H11 L H12 V H13 Q H14 P H15 G H16 G  
 H17 S H18 L H19 R H20 L H21 S H22 C H23 A H  
 24 A H25 S H26 G H27 F H28 T H29 F H30 S H3  
 1 S H32 Y H33 W H34 M H35 S H36 W H37 V H38  
 R H39 Q H40 A H41 P H42 G H43 K H44 G H45 L  
 H46 E H47 W H48 V H49 A H50 N H51 I H52 K 30  
 H52A Q H53 D H54 G H55 S H56 E H57 K H58 Y  
 H59 Y H60 V H61 D H62 S H63 V H64 K H65 G H  
 66 R H67 F H68 T H69 I H70 S H71 R H72 D H7  
 3 N H74 A H75 K H76 N H77 S H78 L H79 Y H80  
 L H81 Q H82 M H82A N H82B S H82C L H83 R H8  
 4 A H85 E H86 D H87 T H88 A H89 V H90 Y H91  
 Y H92 C H93 A H94 R H95 G H96 S H97 S H98 D  
 H99 M H100 - H101 D H102 Y H103 W H104 G H  
 105 Q H106 G H107 T H108 L H109 V H110 T H1  
 11 V H112 S H113 S H114 -。 40

【0141】

他の重鎖可変領域および軽鎖可変領域のカバト番号は、同じ番号を割り当てられた対応残基との整合によって、または、市販のソフトウェアを用いて、決定することができる。

【表 4】

ヒト化9E4抗体における復帰突然変異に好ましいフレームワーク残基のカバト番号付け

	AAAY3335 0 軽鎖	AAC50998 重鎖	マウス 9E4	ヒト化 9E4 v1	ヒト化 9E4 v2	ヒト化 9E4 v3	ヒト化 9E4 v4 (重鎖)
L36	Y	-	F	F	Y	F	-
L83	F	-	L	F	F	L	-
H73	-	N	D	D	N	D	N
H93	-	A	S	S	S	A	A

10

## 【0142】

実施例 I I . - シヌクレイン抗体での受動免疫

この実験の目的は、行動試験のみならずインビボおよびインビトロの調査での、シヌクレイン抗体の有効性を決定することである。開始時月齢3~4の、-シヌクレイン遺伝子組み換え(系列61)雌マウス、-シヌクレインノックアウト雌マウス、および野生型雌マウスを、n=14/群にて使用した。試験した抗体には、9E4(IgG1、エピトープ:アルファシヌクレインのアミノ酸118~126)、5C1(IgG1、エピトープ:アルファシヌクレインのアミノ酸118~126、c-リンカー)、5D12, IgG2(SN118~126)、1H7、IgG1(SN91~99)およびIgG1対照抗体27-1が含まれる。マウスに、合計21回の注射で、5ヶ月にわたって10mg/kgの用量を投与した。さらに、ヒト-シヌクレイン(wt)を発現するレンチウイルス(LV)を、海馬へのヒト-シヌクレイン(wt)の片側導入によって、動物に注射した。

20

## 【0143】

検出抗体(readout antibody)には、Chemiconからのもの(エピトープ、完全長アルファシヌクレイン)、Milliporeからのもの(エピトープ、完全長アルファシヌクレイン)、および、Neotope, ELADW 105(エピトープ:完全長アルファシヌクレインのアミノ酸121~124)が含まれる。

## 【0144】

終点:抗体力価を生活相の間に測定した。行動試験には、モリス水迷路試験(MWW)および水平ビームテストが含まれる。ラウンドビームテストは、異なる直径の2つのビームを用いて行われる、運動バランス、協調および歩調の試験である。ビームAがより大径(より容易、練習ビームと考えられる)であり、ビームDがより小径(より困難、試験ビームと考えられる)である。データは、「エラー」(スリップの回数/10cm)および「速さ」(10cm/秒進むのに要する時間)として表される。水迷路能力は、第10週および最終週に実施した。アルファシヌクレイン凝集、シナプトフィジン、およびMAP2の神経病理学測定値を得た。アルファシヌクレイン、PSD95、シナプトフィジンの生化学測定値を得た。シナプスマーカー、ニューロンマーカーおよびグリアマーカーを用いて、選択多重標識および共焦点標識を行った。

30

40

## 【0145】

結果は、5D12以外のすべての抗体が、-シヌクレイン蓄積を有意に低下させ、MWM能力における陽性の成果に加えて、シナプスおよび樹状密度を保存することを示した。9E4抗体は、行動試験のみならず、インビトロおよびインビボの調査において有効である。検出結果(readout)は、抗体が神経突起/軸索のアルファシヌクレイン凝集を低減するかも知れないことを示唆している。

## 【0146】

行動結果:9E4抗体は、-シヌクレイン遺伝子組み換えマウスにおいて、水迷路能力を向上させた(図3、図4)。一方、5D12抗体は、-シヌクレイン遺伝子組み換えマウスにおいて、水迷路能力を向上させなかった(図4)。9E4抗体および1H7抗

50

体は、速さおよびエラーの両方で測定したビームテストについての能力を向上させたが、5 D 1 2 抗体および5 C 1 抗体は向上させなかった（図4）。

【0147】

神経病理学結果：9 E 4 抗体、1 H 7 抗体および5 C 1 抗体が、E L A D W - 1 0 5 陽性神経突起ジストロフィーを低減したのに対し、5 D 1 2 抗体は低減しなかった。アルファシヌクレイン遺伝子組み換えマウスにおいて、9 E 4 抗体は、対照と比較して、神経網の面積を、新皮質で43%、基底核で40%減少させた。9 E 4 抗体は、また、新皮質および基底核において、シナプトフィジンおよびMAP2を保存した。

【0148】

実施例III. 免疫沈降

種々のバージョンのヒト化9 E 4 抗体の免疫沈降を実施して、疾患組織由来のその抗原に対する結合有効性を試験した（図5）。レビー小体脳を有する認知症から得た、150 μgのTris可溶性脳溶解物を、プロテインG磁気ビーズ（New England Biolabs）を用いて、5 μgの別途示した各抗体で免疫沈降した。試料をPBS / 350 mM NaCl / 0.5% NP-40で5回洗浄し、煮沸し、結果の試料をSDS-PAGEによって分離した。プロットした後、全シヌクレインを検出するポリクローナル抗体であるAb5038（Millipore）で、膜をインキュベートした。実験を3回繰り返して、精度を確認した。

【0149】

実施例IV. ウェスタンブロット

マウス抗体、キメラ抗体およびヒト化9 E 4 抗体での、遺伝子組み換えヒトシヌクレインのウェスタンブロットを図6に示す。抗体希釈曲線は、マウス抗体、キメラ抗体およびヒト化9 E 4 抗体について、見かけ上同様である。すべての抗体は、28 kDaにバンドを検出し、49 kDaに第2のバンドを検出した。49 kDaバンドは、おそらくシヌクレインの多量体である。

【0150】

示した量の遺伝子組み換え細菌発現ヒト野生型シヌクレインをSDS-PAGEで分離し、同量の別途示したタイプの9 E 4 でプロットした。洗浄後、IRDye-800フルオロフォアに抱合した種適合ヤギポリクローナル抗体を施し、プロットを洗浄した。曝露時間は異なる抗体間で同一であった。

【0151】

寄託

次のハイブリドーマを、ブダペスト条約の定めるところに従って、別途示した日に、アメリカ培養細胞系統保存機関（ATCC, P.O. Box 1549, Manassas, VA 20108）に寄託した。この寄託物は、試料提供の最新の求めが受託者によって受領された後少なくとも5年の期間、寄託の日後少なくとも30年の期間、または、関連する特許の法的効力のある期間のうち最長の期間、公認保管所に保存され、突然変異、育成不能または破壊が生じた場合には、置き換えられる。これらの細胞株の公衆への利用可能性に対するすべての制約は、出願から特許が発行されると、取消不能の形で除かれる。

【表5】

モノクローナル抗体	細胞株	エピトープ／特異性	アイソタイプ	寄託日	寄託番号
9E4	JH17.9E4.3.37.1.14.2	アルファシヌクレイン残基 118~126	IgG1 κ	2007 年2月 26日	PTA- 8221

10

20

30

40

【 図 1 】

9E4 VH整合

カバト番号付け	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
m9E4VH	E	V	K	L	V	E	S	G	G	G	L	V	K	P	G	A	S	L	K	L
1791009	E	V	Q	L	V	E	S	G	G	G	L	V	Q	P	G	G	S	L	R	L
Hu9E4VHv1	E	V	Q	L	V	E	S	G	G	G	L	V	Q	P	G	G	S	L	R	L
Hu9E4VHv2	E	V	Q	L	V	E	S	G	G	G	L	V	Q	P	G	G	S	L	R	L
Hu9E4VHv3	E	V	Q	L	V	E	S	G	G	G	L	V	Q	P	G	G	S	L	R	L
Hu9E4VHv4	E	V	Q	L	V	E	S	G	G	G	L	V	Q	P	G	G	S	L	R	L
カバト番号付け	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40
m9E4VH	S	C	A	A	S	G	F	T	F	S	<b>N</b>	<b>Y</b>	<b>G</b>	<b>M</b>	<b>S</b>	W	V	R	Q	T
1791009	S	C	A	A	S	G	F	T	F	S	<b>S</b>	<b>Y</b>	<b>W</b>	<b>M</b>	<b>S</b>	W	V	R	Q	A
Hu9E4VHv1	S	C	A	A	S	G	F	T	F	S	<b>N</b>	<b>Y</b>	<b>G</b>	<b>M</b>	<b>S</b>	W	V	R	Q	A
Hu9E4VHv2	S	C	A	A	S	G	F	T	F	S	<b>N</b>	<b>Y</b>	<b>G</b>	<b>M</b>	<b>S</b>	W	V	R	Q	A
Hu9E4VHv3	S	C	A	A	S	G	F	T	F	S	<b>N</b>	<b>Y</b>	<b>G</b>	<b>M</b>	<b>S</b>	W	V	R	Q	A
Hu9E4VHv4	S	C	A	A	S	G	F	T	F	S	<b>N</b>	<b>Y</b>	<b>G</b>	<b>M</b>	<b>S</b>	W	V	R	Q	A
カバト番号付け	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	52A	53	54	55	56	57	58	59
m9E4VH	S	D	K	R	L	E	W	V	A	<b>S</b>	<b>I</b>	<b>S</b>	<b>Q</b>	<b>D</b>	<b>G</b>	<b>G</b>	<b>S</b>	<b>T</b>	<b>Y</b>	<b>Y</b>
1791009	P	G	K	G	L	E	W	V	A	<b>N</b>	<b>I</b>	<b>K</b>	<b>S</b>	<b>G</b>	<b>S</b>	<b>E</b>	<b>K</b>	<b>Y</b>	<b>Y</b>	<b>Y</b>
Hu9E4VHv1	P	G	K	G	L	E	W	V	A	<b>S</b>	<b>I</b>	<b>S</b>	<b>S</b>	<b>G</b>	<b>G</b>	<b>S</b>	<b>T</b>	<b>Y</b>	<b>Y</b>	<b>Y</b>
Hu9E4VHv2	P	G	K	G	L	E	W	V	A	<b>S</b>	<b>I</b>	<b>S</b>	<b>S</b>	<b>G</b>	<b>G</b>	<b>S</b>	<b>T</b>	<b>Y</b>	<b>Y</b>	<b>Y</b>
Hu9E4VHv3	P	G	K	G	L	E	W	V	A	<b>S</b>	<b>I</b>	<b>S</b>	<b>S</b>	<b>G</b>	<b>G</b>	<b>S</b>	<b>T</b>	<b>Y</b>	<b>Y</b>	<b>Y</b>
Hu9E4VHv4	P	G	K	G	L	E	W	V	A	<b>S</b>	<b>I</b>	<b>S</b>	<b>S</b>	<b>G</b>	<b>G</b>	<b>S</b>	<b>T</b>	<b>Y</b>	<b>Y</b>	<b>Y</b>

【 図 1 ( c o n t . ) 】

Fig. 1 (cont.)

9E4 VH整合

カバト番号付	60	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75	76	77	78	79
m9E4VH	<u>P</u>	<u>D</u>	<u>N</u>	<u>V</u>	<u>K</u>	<u>G</u>	R	F	T	I	S	R	E	D	A	K	N	T	L	Y
1791009	<u>V</u>	<u>D</u>	<u>S</u>	<u>V</u>	<u>K</u>	<u>G</u>	R	F	T	I	S	R	D	N	A	K	N	S	L	Y
Hu9E4VHv1	<u>P</u>	<u>D</u>	<u>N</u>	<u>V</u>	<u>K</u>	<u>G</u>	R	F	T	I	S	R	D	D	A	K	N	S	L	Y
Hu9E4VHv2	<u>P</u>	<u>D</u>	<u>N</u>	<u>V</u>	<u>K</u>	<u>G</u>	R	F	T	I	S	R	D	N	A	K	N	S	L	Y
Hu9E4VHv3	<u>P</u>	<u>D</u>	<u>N</u>	<u>V</u>	<u>K</u>	<u>G</u>	R	F	T	I	S	R	D	D	A	K	N	S	L	Y
Hu9E4VHv4	<u>P</u>	<u>D</u>	<u>N</u>	<u>V</u>	<u>K</u>	<u>G</u>	R	F	T	I	S	R	D	N	A	K	N	S	L	Y
カバト番号付	80	81	82	82A	82B	82C	83	84	85	86	87	88	89	90	91	92	93	94	95	96
m1H7VH	L	Q	M	S	S	L	R	S	E	D	T	A	L	Y	Y	C	S	R	<u>G</u>	<u>G</u>
1791009	L	Q	M	N	S	L	R	A	E	D	T	A	V	Y	Y	C	A	R	<u>G</u>	<u>S</u>
Hu9E4VHv1	L	Q	M	N	S	L	R	A	E	D	T	A	V	Y	Y	C	S	R	<u>G</u>	<u>G</u>
Hu9E4VHv2	L	Q	M	N	S	L	R	A	E	D	T	A	V	Y	Y	C	S	R	<u>G</u>	<u>G</u>
Hu9E4VHv3	L	Q	M	N	S	L	R	A	E	D	T	A	V	Y	Y	C	A	R	<u>G</u>	<u>G</u>
Hu9E4VHv4	L	Q	M	N	S	L	R	A	E	D	T	A	V	Y	Y	C	A	R	<u>G</u>	<u>G</u>
カバト番号付	97	98	99	100	101	102	103	104	105	106	107	108	109	110	111	112	113	114	-	-
m9E4VH	<u>A</u>	<u>G</u>	<u>I</u>	-	<u>D</u>	<u>Y</u>	W	G	Q	G	T	T	L	T	V	S	S	-	-	-
1791009	<u>S</u>	<u>D</u>	<u>M</u>	-	<u>D</u>	<u>Y</u>	W	G	Q	G	T	L	V	T	V	S	S	-	-	-
Hu9E4VHv1	<u>A</u>	<u>G</u>	<u>I</u>	-	<u>D</u>	<u>Y</u>	W	G	Q	G	T	L	V	T	V	S	S	-	-	-
Hu9E4VHv2	<u>A</u>	<u>G</u>	<u>I</u>	-	<u>D</u>	<u>Y</u>	W	G	Q	G	T	L	V	T	V	S	S	-	-	-
Hu9E4VHv3	<u>A</u>	<u>G</u>	<u>I</u>	-	<u>D</u>	<u>Y</u>	W	G	Q	G	T	L	V	T	V	S	S	-	-	-
Hu9E4VHv4	<u>A</u>	<u>G</u>	<u>I</u>	-	<u>D</u>	<u>Y</u>	W	G	Q	G	T	L	V	T	V	S	S	-	-	-

【 図 2 】

9E4 VL整合

カバト番号付け	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
m9E4VL	D	I	V	M	S	Q	S	P	S	S	L	A	V	S	V	G	E	K	V	T
63102889	D	I	Q	M	T	Q	S	P	S	S	L	S	A	S	V	G	D	R	V	T
Hu9E4VLv1	D	I	Q	M	T	Q	S	P	S	S	L	S	A	S	V	G	D	R	V	T
Hu9E4VLv2	D	I	Q	M	T	Q	S	P	S	S	L	S	A	S	V	G	D	R	V	T
Hu9E4VLv3	D	I	Q	M	T	Q	S	P	S	S	L	S	A	S	V	G	D	R	V	T

カバト番号付け	21	22	23	24	25	26	27	27A	27B	27C	27D	27E	27F	28	29	30	31	32	33	34
m9E4VL	M	S	C	K	S	I	Q	T	L	L	L	Y	S	S	N	Q	K	N	Y	L
63102889	I	T	C	R	A	S	Q	-	-	-	-	-	-	S	I	S	S	Y	L	N
Hu9E4VLv1	I	T	C	K	S	I	Q	T	L	L	L	Y	S	S	N	Q	K	N	Y	L
Hu9E4VLv2	I	T	C	K	S	I	Q	T	L	L	L	Y	S	S	N	Q	K	N	Y	L
Hu9E4VLv3	I	T	C	K	S	I	Q	T	L	L	L	Y	S	S	N	Q	K	N	Y	L

カバト番号付け	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54
m9E4VL	W	F	Q	Q	K	P	G	Q	S	P	K	L	L	I	Y	W	A	S	I	R
63102889	W	Y	Q	Q	K	P	G	K	A	P	K	L	L	I	Y	A	A	S	S	L
Hu9E4VLv1	W	F	Q	Q	K	P	G	K	A	P	K	L	L	I	Y	W	A	S	I	R
Hu9E4VLv2	W	Y	Q	Q	K	P	G	K	A	P	K	L	L	I	Y	W	A	S	I	R
Hu9E4VLv3	W	F	Q	Q	K	P	G	K	A	P	K	L	L	I	Y	W	A	S	I	R

【 図 2 ( c o n t . ) 】

Fig. 2 (cont.)

9E4 VL整合

カバト番号付け	55	56	57	58	59	60	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74
m9E4VL	<u>K</u>	<u>S</u>	G	V	P	D	R	F	T	G	S	G	S	G	T	D	F	T	L	T
63102889	<u>Q</u>	<u>S</u>	G	V	P	S	R	F	S	G	S	G	S	G	T	D	F	T	L	T
Hu9E4VLv1	<u>K</u>	<u>S</u>	G	V	P	S	R	F	S	G	S	G	S	G	T	D	F	T	L	T
Hu9E4VLv2	<u>K</u>	<u>S</u>	G	V	P	S	R	F	S	G	S	G	S	G	T	D	F	T	L	T
Hu9E4VLv3	<u>K</u>	<u>S</u>	G	V	P	S	R	F	S	G	S	G	S	G	T	D	F	T	L	T

カバト番号付け	75	76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90	91	92	93	94
m9E4VL	I	S	S	V	K	A	E	D	L	A	V	Y	Y	C	Q	Q	Y	Y	S	Y
63102889	I	S	S	L	Q	P	E	D	F	A	T	Y	Y	C	Q	Q	S	Y	S	T
Hu9E4VLv1	I	S	S	L	Q	P	E	D	F	A	T	Y	Y	C	Q	Q	Y	Y	S	Y
Hu9E4VLv2	I	S	S	L	Q	P	E	D	F	A	T	Y	Y	C	Q	Q	Y	Y	S	Y
Hu9E4VLv3	I	S	S	L	Q	P	E	D	L	A	T	Y	Y	C	Q	Q	Y	Y	S	Y

カバト番号付け	95	96	97	98	99	100	101	102	103	104	105	106	107
m9E4VL	<u>P</u>	<u>L</u>	<u>T</u>	F	G	A	G	T	K	L	E	L	K
63102889	<u>P</u>	<u>L</u>	<u>T</u>	F	G	G	G	T	K	L	E	I	K
Hu9E4VLv1	<u>P</u>	<u>L</u>	<u>T</u>	F	G	G	G	T	K	L	E	I	K
Hu9E4VLv2	<u>P</u>	<u>L</u>	<u>T</u>	F	G	G	G	T	K	L	E	I	K
Hu9E4VLv3	<u>P</u>	<u>L</u>	<u>T</u>	F	G	G	G	T	K	L	E	I	K

【 図 3 】

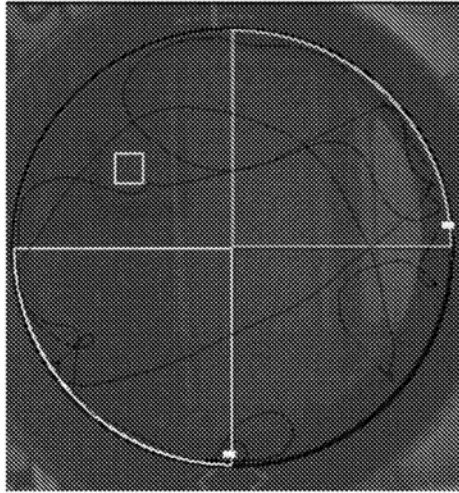
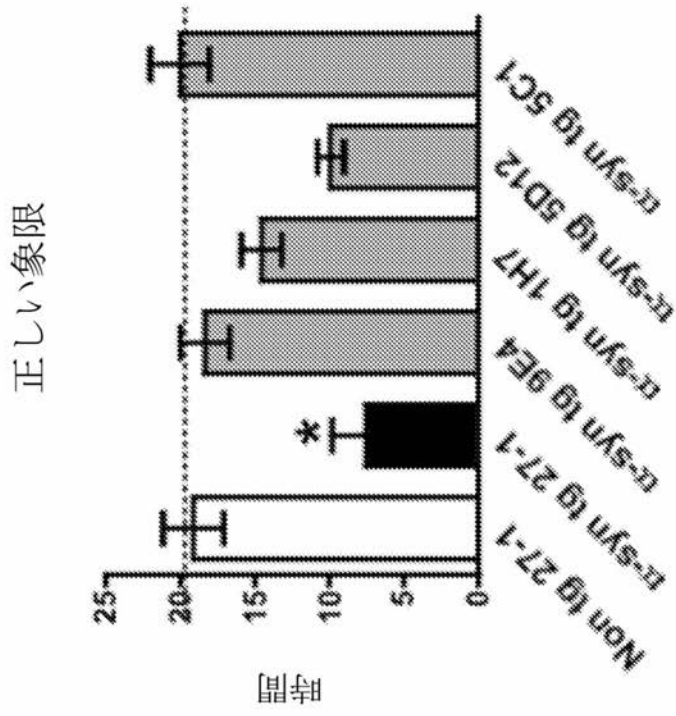


Fig. 3

【 図 4 】

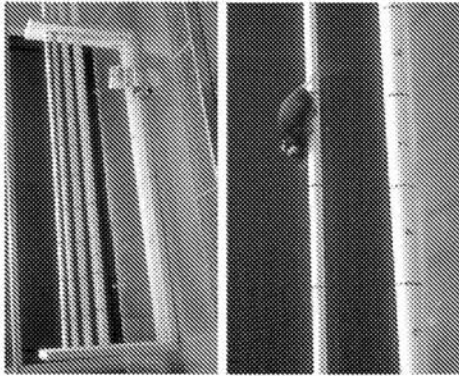
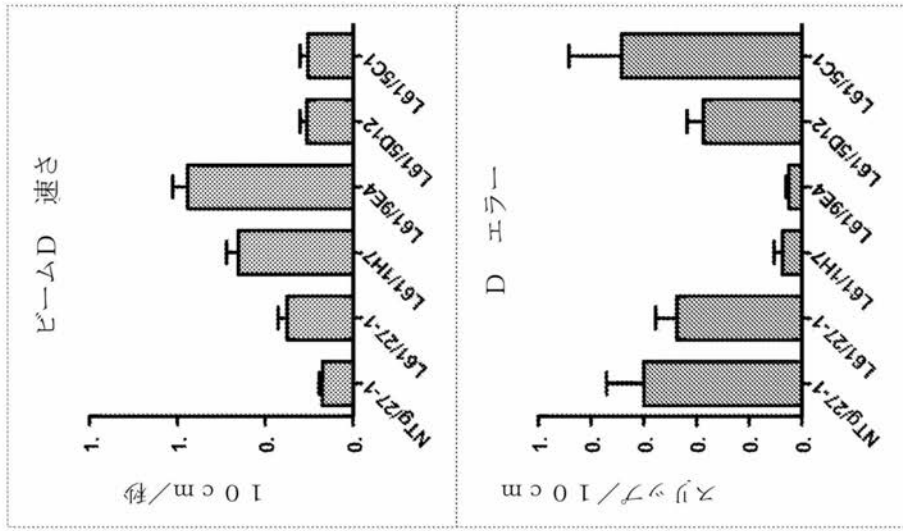


Fig. 4

【 図 5 】

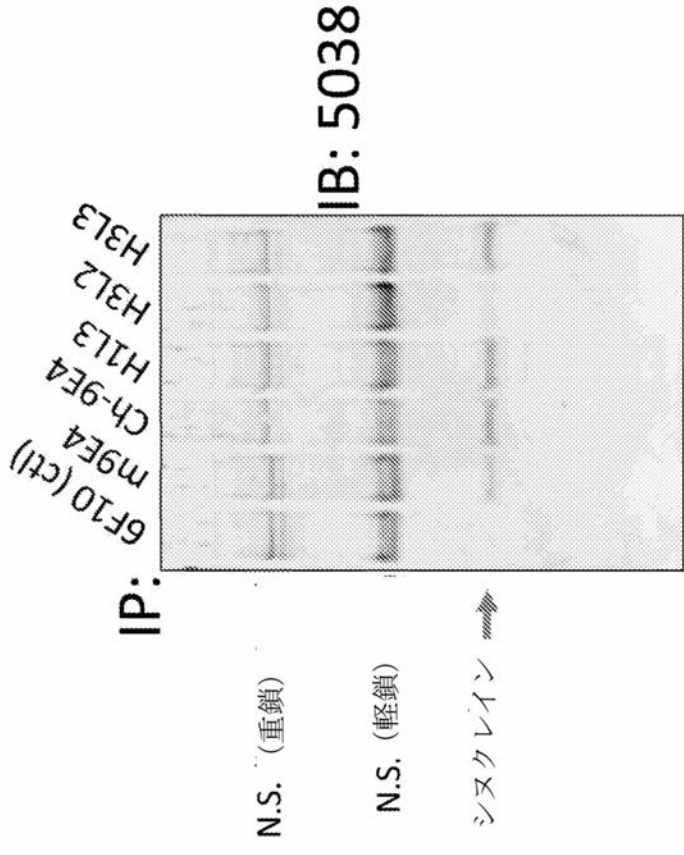


Fig. 5

【 図 6 】

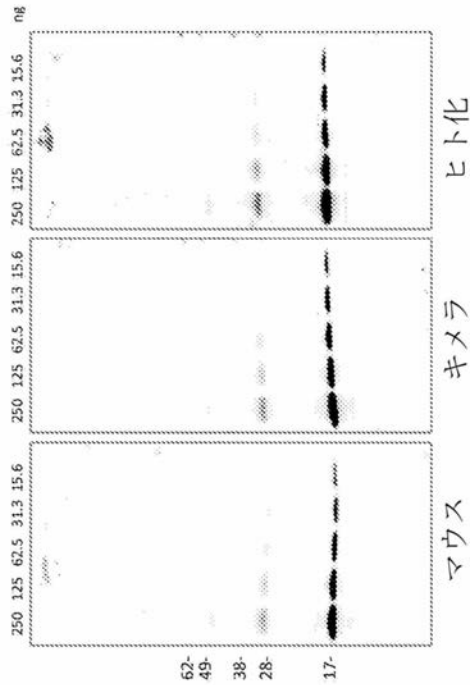


Fig. 6

## 【 配列表 】

2015232002000001.app

【 手続補正書 】

【 提出日 】平成27年7月30日(2015.7.30)

【 手続補正 1 】

【 補正対象書類名 】特許請求の範囲

【 補正対象項目名 】全文

【 補正方法 】変更

【 補正の内容 】

【 特許請求の範囲 】

【 請求項 1 】

配列番号:10のアミノ酸配列を有する重鎖可変領域及び配列番号:32のアミノ酸配列を有する重鎖定常領域と、

配列番号:5のアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域及び配列番号:13のアミノ酸配列を有する軽鎖定常領域と、を有し、

配列番号:32のC末端のリシンは存在していても存在していなくてもよい、抗体。

---

フロントページの続き

(72)発明者 サルダンハ, ホセ  
イギリス国 エーエヌ1 3 ビーディー, エンフィールド ミドルセックス, 21 フィルブ  
ルーク アベニュー

(72)発明者 ニジャー, タルロチャン, エス.  
アメリカ合衆国 カリフォルニア 94563, オリンダ, 34 オウル ヒル ロード

Fターム(参考) 4H045 AA11 BA09 CA40 DA75 EA20

【外国語明細書】

2015232002000001.pdf