(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2010-532158
(P2010-532158A)
(43)公表日　平成22年10月7日(2010.10.7)

(51)Int.Cl.		F I			テーマコード（参考）
C12N 15/09	(2006.01)	C12N	15/00	A	4B024
C07K 16/42	(2006.01)	C07K	16/42	ZNA	4B064
C12N 1/15	(2006.01)	C12N	1/15		4B065
C12N 1/19	(2006.01)	C12N	1/19		4C085
C12N 1/21	(2006.01)	C12N	1/21		4H045

審査請求 未請求　予備審査請求 未請求　（全 105 頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2010-502126 (P2010-502126)
(86)(22)出願日　平成20年4月1日 (2008.4.1)
(85)翻訳文提出日　平成21年11月13日 (2009.11.13)
(86)国際出願番号　PCT/US2008/004286
(87)国際公開番号　WO2008/123999
(87)国際公開日　平成20年10月16日 (2008.10.16)
(31)優先権主張番号　60/921,546
(32)優先日　平成19年4月2日 (2007.4.2)
(33)優先権主張国　米国 (US)
(31)優先権主張番号　61/008,755
(32)優先日　平成19年12月20日 (2007.12.20)
(33)優先権主張国　米国 (US)

(71)出願人　398005777
アムジェン　フレモント　インク.
アメリカ合衆国　カリフォルニア州　９４５５５　フレモント　カイザー　ドライヴ　６７０１
(71)出願人　506181531
ファイザー　インコーポレイティッド
アメリカ合衆国　ニューヨーク州　ニューヨーク　イースト　４２番　ストリート　２３５
(74)代理人　100102978
弁理士　清水　初志
(74)代理人　100102118
弁理士　春名　雅夫

最終頁に続く

(54)【発明の名称】抗ＩｇＥ抗体

(57)【要約】
本発明は、ヒト免疫グロブリンEに対して特異的に向けられる新規ヒト抗体（抗IgE）に関する。本発明はまた、喘息、特にアレルギー性喘息と共に、アレルギー性鼻炎および食物アレルギーが含まれる他のIgE媒介障害を処置するための薬学的組成物および方法にも関する。

【特許請求の範囲】
【請求項１】
以下からなる群より選択される少なくとも一つの追加の特性を有する、ヒトIgEに対して向けられるヒトモノクローナル抗体またはその抗原結合部分、またはその抗原結合部分：
a）ヒトFcεR1をトランスフェクトしたRBL-2H3細胞株を用いるIgE細胞結合アッセイの低減能によって測定した場合に、0.5μg/mLまたはそれ未満のIC_{50}を有する；
b）ヒトFcεR1をトランスフェクトしたRBL-2H3細胞株のIgE媒介脱顆粒の阻害能によって測定した場合に、0.5μg/mLまたはそれ未満のIC_{50}を有する；
c）受容体結合IgEとクロスリンクせず、かつヒトIgEと共に培養したRBL-2H3（FcεR1）細胞のIgE依存的脱顆粒を刺激しない；
d）受容体結合IgEとクロスリンクせず、かつヒト血中好塩基球のIgE依存的脱顆粒を刺激しない；
e）ヒトIgA、IgG1、およびIgG3と比較してIgEに関して非常に選択的である；
f）表面プラズモン共鳴によって測定した場合に、15 nMまたはそれ未満の親和性定数K_Dで、ヒトIgEの完全長に結合する；
g）表面プラズモン共鳴によって測定した場合に2×10^{-4} s^{-1}またはそれより小さいヒトIgEに対するオフレート（kOff）を有する；および
h）組換え型5.396.1；5.396.1 Hc-S103N Lc-K61R；組換え型6.605.1；6.605.1 (H3Q,M13K,D82E-T25A,T53S)；組換え型5.948.1、および5.948.1 H100Yからなる群より選択される抗体として、ヒトIgEの同じエピトープに結合する。
【請求項２】
抗体が約0.1～30μg/mLの$IC_{25\ ng/mL}$（100～5000 ng/mL）を有し、$IC_{25\ ng/mL}$（100～5000 ng/mL）が血清試料中の遊離のIgE濃度を約100～5000 ng/mLの範囲の初回濃度から約25 ng/mLの濃度まで低減するために必要なインビトロ抗体濃度として定義される、ヒトIgEに対して向けられる単離されたヒト抗体、またはその抗原結合部分。
【請求項３】
抗体が約1～30μg/mLの$IC_{25ng/mL}$（500～1500 ng/mL）を有し、$IC_{25ng/mL}$（500～1500 ng/mL）が血清試料中の遊離のIgE濃度を約500～1500 ng/mLの範囲の初回濃度から約25 ng/mLの濃度まで低減するために必要なインビトロ抗体濃度として定義される、請求項2記載の抗体またはその部分。
【請求項４】
抗体が、SEQ ID NO：10、30、50、70、90、および130からなる群より選択される配列を有するH-CDR3を含む、前記請求項のいずれか一項記載の抗体またはその部分。
【請求項５】
抗体が以下からなる群より選択される、前記請求項のいずれか一項記載の抗体またはその部分：
－SEQ ID NO：6、8、10の配列をそれぞれ有するH-CDR（H-CDR1、H-CDR2、H-CDR3）のH-CDRの組と、SEQ ID NO：16、18、20の配列をそれぞれ有するL-CDR（L-CDR1、L-CDR2、L-CDR3）のL-CDRの組とを含む抗体；
－SEQ ID NO：26、28、30の配列をそれぞれ有するH-CDR（H-CDR1、H-CDR2、H-CDR3）のH-CDRの組と、SEQ ID NO：36、38、40の配列をそれぞれ有するL-CDR（L-CDR1、L-CDR2、L-CDR3）のL-CDRの組とを含む抗体；
－SEQ ID NO：46、48、50の配列をそれぞれ有するH-CDR（H-CDR1、H-CDR2、H-CDR3）のH-CDRの組と、SEQ ID NO：56、58、60の配列をそれぞれ有するL-CDR（L-CDR1、L-CDR2、L-CDR3）のL-CDRの組とを含む抗体；
－SEQ ID NO：66、68、70の配列をそれぞれ有するH-CDR（H-CDR1、H-CDR2、H-CDR3）のH-CDRの組と、SEQ ID NO：76、78、80の配列をそれぞれ有するL-CDR（L-CDR1、L-CDR2、L-CDR3）のL-CDRの組とを含む抗体；
－SEQ ID NO：86、88、90の配列をそれぞれ有するH-CDR（H-CDR1、H-CDR2、H-CDR3）のH-

CDRの組と、SEQ ID NO：96、98、100の配列をそれぞれ有するL-CDR（L-CDR1、L-CDR2、L-CDR3）のL-CDRの組とを含む抗体；および
－SEQ ID NO：126、128、130の配列をそれぞれ有するH-CDR（H-CDR1、H-CDR2、H-CDR3）のH-CDRの組と、SEQ ID NO：136、138、140の配列をそれぞれ有するL-CDR（L-CDR1、L-CDR2、L-CDR3）のL-CDRの組とを含む抗体。
【請求項６】
抗体がIgG1またはIgG2サブタイプである、前記請求項のいずれか一項記載の抗体またはその部分。
【請求項７】
抗体が以下からなる群より選択される、前記請求項のいずれか一項記載の抗体またはその部分：
－SEQ ID NO：4の配列を有するH-可変ドメインと、SEQ ID NO：14の配列を有するL-可変ドメインとを含む抗体；
－SEQ ID NO：24の配列を有するH-可変ドメインと、SEQ ID NO：34の配列を有するL-可変ドメインとを含む抗体；
－SEQ ID NO：44の配列を有するH-可変ドメインと、SEQ ID NO：54の配列を有するL-可変ドメインとを含む抗体；
－SEQ ID NO：64の配列を有するH-可変ドメインと、SEQ ID NO：74の配列を有するL-可変ドメインとを含む抗体；
－SEQ ID NO：84の配列を有するH-可変ドメインと、SEQ ID NO：94の配列を有するL-可変ドメインとを含む抗体；および
－SEQ ID NO：124の配列を有するH-可変ドメインと、SEQ ID NO：134の配列を有するL-可変ドメインとを含む抗体。
【請求項８】
抗体が以下からなる群より選択される、前記請求項のいずれか一項記載の抗体またはその部分：
－　SEQ ID NO：2の配列を有するH-鎖と、SEQ ID NO：12の配列を有するL-鎖とを含む抗体；
－　SEQ ID NO：22の配列を有するH-鎖と、SEQ ID NO：32の配列を有するL-鎖とを含む抗体；
－　SEQ ID NO：42の配列を有するH-鎖と、SEQ ID NO：52の配列を有するL-鎖とを含む抗体；
－　SEQ ID NO：62の配列を有するH-鎖と、SEQ ID NO：72の配列を有するL-鎖とを含む抗体；
－　SEQ ID NO：82の配列を有するH-鎖と、SEQ ID NO：92の配列を有するL-鎖とを含む抗体；および
－　SEQ ID NO：122の配列を有するH-鎖と、SEQ ID NO：132の配列を有するL-鎖とを含む抗体。
【請求項９】
抗体が以下からなる群より選択される、前記請求項のいずれか一項記載の抗体またはその部分：
－SEQ ID NO：1の核酸配列によってコードされるH-鎖配列と、SEQ ID NO：11の核酸配列によってコードされるL-鎖配列とを含む抗体；
－SEQ ID NO：21の核酸配列によってコードされるH-鎖配列と、SEQ ID NO：31の核酸配列によってコードされるL-鎖配列とを含む抗体；
－SEQ ID NO：41の核酸配列によってコードされるH-鎖配列と、SEQ ID NO：51の核酸配列によってコードされるL-鎖配列とを含む抗体；
－SEQ ID NO：61の核酸配列によってコードされるH-鎖配列と、SEQ ID NO：71の核酸配列によってコードされるL-鎖配列とを含む抗体；
－SEQ ID NO：81の核酸配列によってコードされるH-鎖配列と、SEQ ID NO：91の核酸配列

によってコードされるL-鎖配列とを含む抗体；および
－SEQ ID NO：121の核酸配列によってコードされるH-鎖配列と、SEQ ID NO：131の核酸配列によってコードされるL-鎖配列とを含む抗体。
【請求項１０】
1、2、3、4、5、6、7、8、9、または10のアミノ酸置換によって前記抗体またはその部分とは異なる、前記請求項のいずれか一項記載の抗体またはその部分の変種。
【請求項１１】
前記請求項のいずれか一項記載の抗体またはその部分の鎖の一つをコードする核酸配列。
【請求項１２】
請求項11記載の核酸配列を含むベクター。
【請求項１３】
請求項1～10のいずれか一項記載の抗体またはその部分の鎖の一つを発現するのに適したベクター。
【請求項１４】
請求項1～10のいずれか一項記載の抗体またはその部分の鎖の一つを発現する細胞。
【請求項１５】
請求項14記載の細胞を培養する段階と、抗体またはその部分を回収する段階とを含む、請求項1～10のいずれか一項記載の抗体またはその部分を作製するための方法。
【請求項１６】
薬剤として用いるための、請求項1～10のいずれか一項記載の抗体またはその部分。
【請求項１７】
喘息、アレルギー性喘息、アレルギー性鼻炎、および食物アレルギーからなる群より選択されるIgE媒介障害の処置のための、請求項1～10のいずれか一項記載の抗体またはその部分。
【請求項１８】
請求項1～10のいずれか一項記載の抗体またはその部分を含む薬学的組成物。
【請求項１９】
喘息、アレルギー性喘息、アレルギー性鼻炎、および食物アレルギーからなる群より選択されるIgE媒介障害の処置のための、前記請求項に記載の薬学的組成物。
【請求項２０】
請求項1～10のいずれか一項記載の抗体またはその部分の治療的有効量を対象に投与する段階を含む、それを必要とする対象における喘息、アレルギー性喘息、アレルギー性鼻炎、および食物アレルギーからなる群より選択されるIgE媒介障害を処置するための方法。
【請求項２１】
喘息、アレルギー性喘息、アレルギー性鼻炎、および食物アレルギーからなる群より選択されるIgE媒介障害を処置するための薬剤の製造における、請求項1～10のいずれか一項記載の抗体またはその部分の使用。
【請求項２２】
SEQ ID NO： 1、3、11、13、21、23、31、33、41、43、51、53、61、63、71、73、81、83、91、93、101、103、105、107、109、111、121、123、131、および133からなる群より選択される核酸配列。
【請求項２３】
以下からなる群より選択される、ヒトIgEに対して向けられる抗体：
－SEQ ID NO：4の配列を有するH-可変ドメインと、SEQ ID NO：14の配列を有するL-可変ドメインとを含む抗体；
－SEQ ID NO：24の配列を有するH-可変ドメインと、SEQ ID NO：34の配列を有するL-可変ドメインとを含む抗体；
－SEQ ID NO：44の配列を有するH-可変ドメインと、SEQ ID NO：54の配列を有するL-可変

ドメインとを含む抗体；
－SEQ ID NO：64の配列を有するH-可変ドメインと、SEQ ID NO：74の配列を有するL-可変ドメインとを含む抗体；
－SEQ ID NO：84の配列を有するH-可変ドメインと、SEQ ID NO：94の配列を有するL-可変ドメインとを含む抗体；および
－SEQ ID NO：124の配列を有するH-可変ドメインと、SEQ ID NO：134の配列を有するL-可変ドメインとを含む抗体。
【請求項２４】
SEQ ID NO：2の配列を有するH-鎖と、SEQ ID NO：12の配列を有するL-鎖とを含む、ヒトIgEに対して向けられる抗体。
【請求項２５】
SEQ ID NO：22の配列を有するH-鎖と、SEQ ID NO：32の配列を有するL-鎖とを含む、ヒトIgEに対して向けられる抗体。
【請求項２６】
SEQ ID NO：42の配列を有するH-鎖と、SEQ ID NO：52の配列を有するL-鎖とを含む、ヒトIgEに対して向けられる抗体。
【請求項２７】
SEQ ID NO：62の配列を有するH-鎖と、SEQ ID NO：72の配列を有するL-鎖とを含む、ヒトIgEに対して向けられる抗体。
【請求項２８】
SEQ ID NO：82の配列を有するH-鎖と、SEQ ID NO：92の配列を有するL-鎖とを含む、ヒトIgEに対して向けられる抗体。
【請求項２９】
SEQ ID NO：122の配列を有するH-鎖と、SEQ ID NO：132の配列を有するL-鎖とを含む、ヒトIgEに対して向けられる抗体。
【請求項３０】
ブダペスト条約に従って2006年11月07日にAmerican Type Culture Collection (ATCC), P.O. Box 1549, Manassas, VA 20108, USAに寄託された、ATCC寄託番号PTA-7977のインサートによってコードされるH-鎖と、ATCC寄託番号PTA-7982のインサートによってコードされるL-鎖とを含む、ヒトIgEに対して向けられる抗体。
【請求項３１】
ブダペスト条約に従って2006年11月07日にAmerican Type Culture Collection (ATCC), P.O. Box 1549, Manassas, VA 20108, USAに寄託された、ATCC寄託番号PTA-7981のインサートによってコードされるH-鎖と、ATCC寄託番号PTA-7980のインサートによってコードされるL-鎖とを含む、ヒトIgEに対して向けられる抗体。
【請求項３２】
ブダペスト条約に従って2006年11月07日にAmerican Type Culture Collection (ATCC), P.O. Box 1549, Manassas, VA 20108, USAに寄託された、ATCC寄託番号PTA-7985のインサートによってコードされるH-鎖と、ATCC寄託番号PTA-7984のインサートによってコードされるL-鎖とを含む、ヒトIgEに対して向けられる抗体。
【請求項３３】
ブダペスト条約に従って2006年11月07日にAmerican Type Culture Collection (ATCC), P.O. Box 1549, Manassas, VA 20108, USAに寄託された、ATCC寄託番号PTA-7983のインサートによってコードされるH-鎖と、ATCC寄託番号PTA-7978のインサートによってコードされるL-鎖とを含む、ヒトIgEに対して向けられる抗体。
【請求項３４】
ブダペスト条約に従って2006年11月07日にAmerican Type Culture Collection (ATCC), P.O. Box 1549, Manassas, VA 20108, USAに寄託された、ATCC寄託番号PTA-7979のインサートによってコードされるH-鎖と、ATCC寄託番号PTA-7986のインサートによってコードされるL-鎖とを含む、ヒトIgEに対して向けられる抗体。

【請求項３５】
薬剤として用いるための請求項23～34のいずれか一項記載の抗体。
【請求項３６】
喘息、アレルギー性喘息、アレルギー性鼻炎、および食物アレルギーからなる群より選択されるIgE媒介障害を処置するための、請求項23～34のいずれか一項記載の抗体。
【請求項３７】
請求項23～34のいずれか一項記載の抗体を含む薬学的組成物。
【請求項３８】
喘息、アレルギー性喘息、アレルギー性鼻炎、および食物アレルギーからなる群より選択されるIgE媒介障害を処置するための、前記請求項に記載の薬学的組成物。
【請求項３９】
請求項23～34のいずれか一項記載の抗体の治療的有効量を対象に投与する段階を含む、それを必要とする対象における喘息、アレルギー性喘息、アレルギー性鼻炎、および食物アレルギーからなる群より選択されるIgE媒介障害を処置するための方法。
【請求項４０】
喘息、アレルギー性喘息、アレルギー性鼻炎、および食物アレルギーからなる群より選択されるIgE媒介障害を処置するための薬剤の製造における、請求項23～34のいずれか一項記載の抗体の使用。
【請求項４１】
請求項23～34のいずれか一項記載の抗体またはその部分の鎖の一つをコードする核酸配列。
【請求項４２】
請求項41記載の核酸配列を含むベクター。
【請求項４３】
請求項23～34のいずれか一項記載の抗体またはその部分の鎖の一つを発現するのに適したベクター。
【請求項４４】
請求項23～34のいずれか一項記載の抗体またはその部分の鎖の一つを発現する細胞。
【請求項４５】
請求項43記載の細胞を培養する段階と、抗体またはその部分を回収する段階とを含む、請求項23～34のいずれか一項記載の抗体またはその部分を作製するための方法。
【請求項４６】
請求項1～10または23～34のいずれか一項記載の抗IgE抗体または抗原結合部分をIgEに接触させる段階を含む、FcεR1に対するIgEの結合を低減させるための方法。
【請求項４７】
請求項1～10または23～34のいずれか一項記載の抗IgE抗体またはその抗原結合部分を細胞に接触させる段階を含む、細胞によるIgE媒介脱顆粒を低減させるための方法。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
発明の分野
本発明は、ヒト免疫グロブリンEに対して特異的に向けられる新規ヒト抗体（抗IgE）に関する。本発明の抗体は、喘息、特にアレルギー性喘息を処置するためと共に、アレルギー性鼻炎および食物アレルギーが含まれる他のIgE媒介障害を処置するために特に適している。
【背景技術】
【０００２】
発明の背景
喘息は、感受性のある個体における喘鳴、息切れ、胸部圧迫感、および／または咳の再発事例を引き起こす気道の慢性的な炎症障害である。当業者は、以下が含まれる様々なタ

イプの喘息を区別している：環境のアレルゲンに対する過敏症を発症したことがある患者において生じると考えられる、アレルギー性喘息；アスピリンまたは他のCOX阻害剤に対する感受性によって典型的に誘発される薬物誘発性喘息；運動誘発性喘息；亜致死性および超急性喘息；夜間喘息；一般的に仕事場での一定の化学物質に対する曝露によって引き起こされる職業性喘息。このように、喘息は、以下が含まれる様々な刺激によって誘発されうる；埃-ダニ、花粉、動物のふけ、真菌胞子、羽根等などの浮遊するアレルゲン（外因性喘息）；タバコの煙、化学物質の煙霧、汚染、二酸化硫黄等などの非特異的刺激物質（内因性喘息）。

【０００３】

免疫グロブリンE（IgE）は、アレルギー反応、特にアレルギー性喘息に関係していることが示されている。ごく最近、モノクローナル抗体（商品名Xolair（登録商標）として販売されている、E25とも呼ばれるオマリズマブ；Presta et al. J Immunol. 1993 Sep 1;151(5):2623-32（非特許文献1））が、世界中のいくつかの機関からの承認を獲得した。重度の喘息に対して有効性を示すものの、この抗体はなおいくつかの欠点を有する。第一に、これはヒト化マウスモノクローナル抗体であり、そのため、ヒト患者における免疫反応を完全に排除せず、このように何らかの安全性上の懸念を生じる可能性がある。第二に、重度の喘息の処置において用いられるオマリズマブの用量は、体重と、循環中の遊離のIgEレベルの双方に基づいている。体重および循環中の遊離のIgEが明記された範囲から逸脱する患者は、この処置を使用しないように勧告される。処置することができる患者は、2週間に1回、3回までの皮下注射を受ける必要があるかも知れない。このことは、処置の費用と共に患者のクオリティオブライフに重く影響を及ぼす。

【０００４】

完全なヒト抗IgEモノクローナル抗体を提供することが望ましく、そのような抗体はヒト患者におけるマウス抗体の使用に対するいかなる懸念も最小限にするであろう。さらに、より強力な抗IgEモノクローナル抗体を提供することが望ましい。抗力の増加によって典型的に以下の利点が得られるであろう：臨床での利益を達成するために必要な用量がより少ない、必要な注射容量がより少ない（皮下投与の場合）、処置費用がより少ない、処置が成功する機会が増加する、処置養生法における投与回数が減少して、それによって体重がより重く、および／または循環中のIgEが高レベルである患者が含まれるより広い患者集団が処置を利用できるようになり、ならびに患者のクオリティオブライフを改善する。

【先行技術文献】

【非特許文献】

【０００５】

【非特許文献１】Presta et al. J Immunol. 1993 Sep 1;151(5):2623-32

【発明の概要】

【０００６】

本発明は、ヒトIgEに対して向けられるヒト抗体（本明細書において時に抗IgE抗体と呼ばれる）、またはその抗原結合部分に関する。

【０００７】

もう一つの態様において、ヒトIgEに対して向けられる抗IgE抗体またはその部分は、ヒトFcεR1をトランスフェクトしたRBL-2H3細胞株を用いる細胞結合アッセイにおいてIgE結合の低減能によって測定した場合に、0.5μg/mLまたはそれ未満のIC50を有する。

【０００８】

さらなる態様において、抗IgE抗体またはその部分は、ヒトFcεR1をトランスフェクトしたRBL-2H3細胞株のIgE媒介脱顆粒の阻害能によって測定した場合に0.5μg/mLまたはそれ未満のIC50を有し、この場合RBL-2H3（FcεR1）細胞を抗IgE抗体およびヒトIgEと共に48時間培養して、洗浄して抗IgE：IgE複合体を除去して、FcεR1に結合したIgEを残し、次に結合したIgEとクロスリンクするポリクローナル抗IgE抗体によって刺激すると、IgE媒介脱顆粒が起こる。さらなる態様において、該IC50は、0.2μg/mL未満、0.1μg/mL未満、

0.08μg/mL未満、または0.02μg/mL未満である。

【０００９】

もう一つの態様において、ヒトIgEに対して向けられる抗体またはその抗原結合部分は、受容体結合IgEにクロスリンクせず、ヒトIgEと共に48時間培養後洗浄して非結合IgEを除去したRBL-2H3（FcεR1）細胞のIgE依存的脱顆粒を刺激しない。本発明のヒトIgEに対して向けられる抗体またはその抗原結合部分は、単離されたRBL-2H3（FcεR1）に対してアゴニスト活性を有しない。

【００１０】

もう一つの態様において、ヒトIgEに対して向けられる抗体またはその抗原結合部分は、受容体結合IgEとクロスリンクせず、ヒトIgEと共に終夜培養したヒト血中好塩基球のIgE依存的脱顆粒を刺激しない。本発明のヒトIgEに対して向けられる抗体または抗原結合部分は、単離されたヒト血中好塩基球に対してアゴニスト活性を有しない。

【００１１】

もう一つの態様において、ヒトIgEに対して向けられる抗体またはその抗原結合部分は、ヒトIgA、IgG1、およびIgG3と比較してIgEに対して非常に選択的である。

【００１２】

もう一つの態様において、抗体またはその抗原結合部分は、表面プラズモン共鳴（BIAcore）によって測定した場合に、15 nMまたはそれ未満の親和性定数K_DでヒトIgEの完全長に結合する。さらなる態様において、K_D値は、表面プラズモン共鳴によって測定した場合に10 nM未満、5 nM未満、または3 nM未満である。一定の態様において、K_Dは、1 pM～100 nMである。他の態様において、K_Dは、1 pM～5 nMである。他の態様において、K_D値は、1 pM～300 pM、1 pM～200 pM、または160 pM未満の値である。もう一つの態様において、抗体またはその部分は、表面プラズモン共鳴によって測定した場合に2×10^{-4} s^{-1}またはそれより小さいヒトIgEに関するオフレート（off rate、kOff）を有する。たとえば、一定の態様において、抗体または部分は、1.5×10^{-4} s^{-1}未満、9×10^{-5} s^{-1}未満、5×10^{-5} s^{-1}未満、または2.5×10^{-5} s^{-1}未満のヒトIgEに関するkOffを有する。もう一つの態様において、抗体またはその部分は、1×10^{4} M^{-1} s^{-1}より大きい、2×10^{4} M^{-1} s^{-1}より大きい、3×10^{4} M^{-1} s^{-1}より大きい、1×10^{5} M^{-1} s^{-1}より大きい、または1.5×10^{5} M^{-1} s^{-1}より大きいヒトIgEに関するオンレート（on rate、k_a）を有する。

【００１３】

そのようなK値は、ELISA、RIA、フローサイトメトリー、またはBIACORE（商標）などの表面プラズモン共鳴などの当業者に公知の任意の技術によって測定することができる。

【００１４】

もう一つの態様において、ヒトIgEに対して向けられる抗体またはその抗原結合部分は、カニクイザルIgEと交差反応する。

【００１５】

もう一つの態様において、抗IgE抗体またはその部分は、組換え型5.396.1；5.396.1 Hc-S103N Lc-K61R；組換え型6.605.1；6.605.1（H3Q,M13K,D82E-T25A,T53S）；組換え型5.948.1および5.948.1 H100Yからなる群より選択される抗体と、ヒトIgEに対する結合に関して競合する。

【００１６】

もう一つの態様において、抗IgE抗体またはその部分は、組換え型5.396.1；5.396.1 Hc-S103N Lc-K61R；組換え型6.605.1；6.605.1（H3Q,M13K,D82E-T25A,T53S）；組換え型5.948.1および5.948.1 H100Yからなる群より選択される抗体と、ヒトIgEの同じエピトープに結合する。

【００１７】

一つの局面において、本発明は、ヒトIgEに対して向けられるヒト抗体、またはその抗原結合部分を提供し、該抗体は、約0.1～30μg/mLの$IC_{25ng/mL}$（100-5000 ng/mL）を有し、$IC_{25ng/mL}$（100-5000 ng/mL）は、血清試料中の遊離のIgE濃度を約100～5000 ng/mLの範囲の初回濃度から約25 ng/mLの濃度まで低減させるために必要な抗体のインビトロ濃度

として定義される。

【００１８】

もう一つの局面において、本発明は、ヒトIgEに対して向けられるヒト抗体、またはその抗原結合部分を提供し、該抗体は、約1～25μg/mLの$IC_{25ng/mL}$（500-1500 ng/mL）を有し、$IC_{25ng/mL}$（500-1500 ng/mL）は、血清試料中の遊離のIgE濃度を約500～1500 ng/mLの範囲の初回濃度から約25 ng/mLの濃度まで低減させるために必要な抗体のインビトロ濃度として定義される。

【００１９】

一つの態様において、抗IgE抗体またはその部分は、SEQ ID NO：10、30、50、70、90、および130からなる群より選択される配列を有するH-CDR3を含む。

【００２０】

一つの態様において、抗IgE抗体またはその部分は、SEQ ID NO：20、40、60、80、100、および140からなる群より選択される配列を有するL-CDR3を含む。

【００２１】

一つの態様において、抗IgE抗体または部分は、以下からなる群より選択される：

－SEQ ID NO：10の配列を有するH-CDR3と、SEQ ID NO：20の配列を有するLCDR3とを含む抗体；

－SEQ ID NO：30の配列を有するH-CDR3と、SEQ ID NO：40の配列を有するLCDR3とを含む抗体；

－SEQ ID NO：50の配列を有するH-CDR3と、SEQ ID NO：60の配列を有するLCDR3とを含む抗体；

－SEQ ID NO：70の配列を有するH-CDR3と、SEQ ID NO：80の配列を有するLCDR3とを含む抗体；および

－SEQ ID NO：90の配列を有するH-CDR3と、SEQ ID NO：100の配列を有するLCDR3とを含む抗体；

－SEQ ID NO：130の配列を有するH-CDR3と、SEQ ID NO：140の配列を有するLCDR3とを含む抗体。

【００２２】

もう一つの態様において、抗IgE抗体またはその部分は、以下からなる群より選択される：

－SEQ ID NO：6、8、10の配列をそれぞれ有するH-CDR（H-CDR1、H-CDR2、H-CDR3）のH-CDRの組を含む抗体；

－SEQ ID NO：26、28、30の配列をそれぞれ有するH-CDR（H-CDR1、H-CDR2、H-CDR3）のH-CDRの組を含む抗体；

－SEQ ID NO：46、48、50の配列をそれぞれ有するH-CDR（H-CDR1、H-CDR2、H-CDR3）のH-CDRの組を含む抗体；

－SEQ ID NO：66、68、70の配列をそれぞれ有するH-CDR（H-CDR1、H-CDR2、H-CDR3）のH-CDRの組を含む抗体；

－SEQ ID NO：86、88、90の配列をそれぞれ有するH-CDR（H-CDR1、H-CDR2、H-CDR3）のH-CDRの組を含む抗体；および

－SEQ ID NO：126、128、130の配列をそれぞれ有するH-CDR（H-CDR1、H-CDR2、H-CDR3）のH-CDRの組を含む抗体。

【００２３】

もう一つの態様において、抗IgE抗体またはその部分は、以下からなる群より選択される：

－SEQ ID NO：16、18、20の配列をそれぞれ有するL-CDR（L-CDR1、L-CDR2、L-CDR3）のL-CDRの組を含む抗体；

－SEQ ID NO：36、38、40の配列をそれぞれ有するL-CDR（L-CDR1、L-CDR2、L-CDR3）のL-CDRの組を含む抗体；

－SEQ ID NO：56、58、60の配列をそれぞれ有するL-CDR（L-CDR1、L-CDR2、L-CDR3）の

L-CDRの組を含む抗体；
－SEQ ID NO：76、78、80の配列をそれぞれ有するL-CDR（L-CDR1、L-CDR2、L-CDR3）のL-CDRの組を含む抗体；
－SEQ ID NO：96、98、100の配列をそれぞれ有するL-CDR（L-CDR1、L-CDR2、L-CDR3）のL-CDRの組を含む抗体；および
－SEQ ID NO：136、138、140の配列をそれぞれ有するL-CDR（L-CDR1、L-CDR2、L-CDR3）のL-CDRの組を含む抗体。

【００２４】

もう一つの態様において、抗IgE抗体またはその部分は、以下からなる群より選択される：
－SEQ ID NO：6、8、10の配列をそれぞれ有するH-CDR（H-CDR1、H-CDR2、H-CDR3）のH-CDRの組と、SEQ ID NO：16、18、20の配列をそれぞれ有するL-CDR（L-CDR1、L-CDR2、L-CDR3）のL-CDRの組とを含む抗体；
－SEQ ID NO：26、28、30の配列をそれぞれ有するH-CDR（H-CDR1、H-CDR2、H-CDR3）のH-CDRの組と、SEQ ID NO：36、38、40の配列をそれぞれ有するL-CDR（L-CDR1、L-CDR2、L-CDR3）のL-CDRの組とを含む抗体；
－SEQ ID NO：46、48、50の配列をそれぞれ有するH-CDR（H-CDR1、H-CDR2、H-CDR3）のH-CDRの組と、SEQ ID NO：56、58、60の配列をそれぞれ有するL-CDR（L-CDR1、L-CDR2、L-CDR3）のL-CDRの組とを含む抗体；
－SEQ ID NO：56、58、60の配列をそれぞれ有するH-CDR（H-CDR1、H-CDR2、H-CDR3）のH-CDRの組と、SEQ ID NO：66、68、70の配列をそれぞれ有するL-CDR（L-CDR1、L-CDR2、L-CDR3）のL-CDRの組とを含む抗体；
－SEQ ID NO：66、68、70の配列をそれぞれ有するH-CDR（H-CDR1、H-CDR2、H-CDR3）のH-CDRの組と、SEQ ID NO：76、78、80の配列をそれぞれ有するL-CDR（L-CDR1、L-CDR2、L-CDR3）のL-CDRの組とを含む抗体；
－SEQ ID NO：86、88、90の配列をそれぞれ有するH-CDR（H-CDR1、H-CDR2、H-CDR3）のH-CDRの組と、SEQ ID NO：96、98、100の配列をそれぞれ有するL-CDR（L-CDR1、L-CDR2、L-CDR3）のL-CDRの組とを含む抗体；および
－SEQ ID NO：126、128、130の配列をそれぞれ有するH-CDR（H-CDR1、H-CDR2、H-CDR3）のH-CDRの組と、SEQ ID NO：136、138、140の配列をそれぞれ有するL-CDR（L-CDR1、L-CDR2、L-CDR3）のL-CDRの組とを含む抗体。

【００２５】

もう一つの態様において、抗IgE抗体またはその部分は、以下からなる群より選択される：
－SEQ ID NO：4の配列を有するH-可変ドメインを含む抗体；
－SEQ ID NO：24の配列を有するH-可変ドメインを含む抗体；
－SEQ ID NO：44の配列を有するH-可変ドメインを含む抗体；
－SEQ ID NO：64の配列を有するH-可変ドメインを含む抗体；
－SEQ ID NO：84の配列を有するH-可変ドメインを含む抗体；および
－SEQ ID NO：124の配列を有するH-可変ドメインを含む抗体。

【００２６】

もう一つの態様において、抗IgE抗体またはその部分は、以下からなる群より選択される：
－SEQ ID NO：14の配列を有するL-可変ドメインを含む抗体；
－SEQ ID NO：34の配列を有するL-可変ドメインを含む抗体；
－SEQ ID NO：54の配列を有するL-可変ドメインを含む抗体；
－SEQ ID NO：74の配列を有するL-可変ドメインを含む抗体；
－SEQ ID NO：94の配列を有するL-可変ドメインを含む抗体；および
－SEQ ID NO：134の配列を有するL-可変ドメインを含む抗体。

【００２７】

もう一つの態様において、抗IgE抗体またはその部分は、以下からなる群より選択される：

－SEQ ID NO：4の配列を有するH-可変ドメインと、SEQ ID NO：14の配列を有するL-可変ドメインとを含む抗体；

－SEQ ID NO：24の配列を有するH-可変ドメインと、SEQ ID NO：14の配列を有するL-可変ドメインとを含む抗体；

－SEQ ID NO：24の配列を有するH-可変ドメインと、SEQ ID NO：34の配列を有するL-可変ドメインとを含む抗体；

－SEQ ID NO：4の配列を有するH-可変ドメインと、SEQ ID NO：34の配列を有するL-可変ドメインとを含む抗体；

－SEQ ID NO：44の配列を有するH-可変ドメインと、SEQ ID NO：54の配列を有するL-可変ドメインとを含む抗体；

－SEQ ID NO：64の配列を有するH-可変ドメインと、SEQ ID NO：54の配列を有するL-可変ドメインとを含む抗体；

－SEQ ID NO：44の配列を有するH-可変ドメインと、SEQ ID NO：74の配列を有するL-可変ドメインとを含む抗体；

－SEQ ID NO：64の配列を有するH-可変ドメインと、SEQ ID NO：74の配列を有するL-可変ドメインとを含む抗体；

－SEQ ID NO：84の配列を有するH-可変ドメインと、SEQ ID NO：94の配列を有するL-可変ドメインとを含む抗体；

－SEQ ID NO：124の配列を有するH-可変ドメインと、SEQ ID NO：94の配列を有するL-可変ドメインとを含む抗体；

－SEQ ID NO：84の配列を有するH-可変ドメインと、SEQ ID NO：134の配列を有するL-可変ドメインとを含む抗体；および

－SEQ ID NO：124の配列を有するH-可変ドメインと、SEQ ID NO：134の配列を有するL-可変ドメインとを含む抗体。

【００２８】

もう一つの態様において、抗IgE抗体またはその部分は、以下からなる群より選択される：

－SEQ ID NO：2の配列を有するH-鎖を含む抗体；

－SEQ ID NO：22の配列を有するH-鎖を含む抗体；

－SEQ ID NO：42の配列を有するH-鎖を含む抗体；

－SEQ ID NO：62の配列を有するH-鎖を含む抗体；

－SEQ ID NO：82の配列を有するH-鎖を含む抗体；および

－SEQ ID NO：122の配列を有するH-鎖を含む抗体。

【００２９】

もう一つの態様において、抗IgE抗体またはその部分は、以下からなる群より選択される：

－SEQ ID NO：12の配列を有するL-鎖を含む抗体；

－SEQ ID NO：32の配列を有するL-鎖を含む抗体；

－SEQ ID NO：52の配列を有するL-鎖を含む抗体；

－SEQ ID NO：72の配列を有するL-鎖を含む抗体；

－SEQ ID NO：92の配列を有するL-鎖を含む抗体；および

－SEQ ID NO：132の配列を有するL-鎖を含む抗体。

【００３０】

もう一つの態様において、抗IgE抗体またはその部分は、以下からなる群より選択される：

－SEQ ID NO：2の配列を有するH-鎖と、SEQ ID NO：12の配列を有するL-鎖とを含む抗体；

－SEQ ID NO：22の配列を有するH-鎖と、SEQ ID NO：12の配列を有するL-鎖とを含む抗

体；
－SEQ ID NO：22の配列を有するH-鎖と、SEQ ID NO：32の配列を有するL-鎖とを含む抗体；
－SEQ ID NO：2の配列を有するH-鎖と、SEQ ID NO：32の配列を有するL-鎖とを含む抗体；
－SEQ ID NO：42の配列を有するH-鎖と、SEQ ID NO：52の配列を有するL-鎖とを含む抗体；
－SEQ ID NO：62の配列を有するH-鎖と、SEQ ID NO：52の配列を有するL-鎖とを含む抗体；
－SEQ ID NO：62の配列を有するH-鎖と、SEQ ID NO：72の配列を有するL-鎖とを含む抗体；
－SEQ ID NO：42の配列を有するH-鎖と、SEQ ID NO：72の配列を有するL-鎖とを含む抗体；
－SEQ ID NO：82の配列を有するH-鎖と、SEQ ID NO：92の配列を有するL-鎖とを含む抗体；
－SEQ ID NO：82の配列を有するH-鎖と、SEQ ID NO：132の配列を有するL-鎖とを含む抗体；
－SEQ ID NO：122の配列を有するH-鎖と、SEQ ID NO：92の配列を有するL-鎖とを含む抗体；および
－SEQ ID NO：122の配列を有するH-鎖と、SEQ ID NO：132の配列を有するL-鎖とを含む抗体。

【００３１】

さらなる態様において、抗IgE抗体またはその部分は、以下からなる群より選択される：
－SEQ ID NO：1の核酸配列によってコードされるH-鎖配列と、SEQ ID NO：11の核酸配列によってコードされるL-鎖配列とを含む抗体；
－SEQ ID NO：21の核酸配列によってコードされるH-鎖配列と、SEQ ID NO：31の核酸配列によってコードされるL-鎖配列とを含む抗体；
－SEQ ID NO：41の核酸配列によってコードされるH-鎖配列と、SEQ ID NO：51の核酸配列によってコードされるL-鎖配列とを含む抗体；
－SEQ ID NO：61の核酸配列によってコードされるH-鎖配列と、SEQ ID NO：71の核酸配列によってコードされるL-鎖配列とを含む抗体；
－SEQ ID NO：81の核酸配列によってコードされるH-鎖配列と、SEQ ID NO：91の核酸配列によってコードされるL-鎖配列とを含む抗体；および
－SEQ ID NO：121の核酸配列によってコードされるH-鎖配列と、SEQ ID NO：131の核酸配列によってコードされるL-鎖配列とを含む抗体。

【００３２】

もう一つの態様において、抗IgE抗体またはその部分（該部分が重鎖定常領域の少なくとも一部を含む程度に）は、IgG1またはIgG2サブタイプの抗体である。

【００３３】

もう一つの局面において、本発明は、アミノ酸置換1、2、3、4、5、6、7、8、9、または10個によって抗体または部分とは異なる、先に記載した抗体または部分の変種を提供する。

【００３４】

もう一つの局面において、本発明は、先に記載した抗体または部分の鎖の一つをコードする核酸配列を提供する。

【００３５】

さらなる局面において、本発明は、先に記載した抗体または部分の鎖の一つをコードする核酸配列を含むベクターを提供する。

【００３６】

さらなる局面において、本発明は、先に記載した抗体または部分の鎖の一つを発現するために適したベクターを提供する。

【００３７】

もう一つの局面において、本発明は、先に記載した抗体または部分の鎖の一つを発現する細胞を提供する。

【００３８】

もう一つの局面において、本発明は、先に記載した細胞を培養する段階、および抗体またはその部分を回収する段階を含む、先に記載した抗体または部分を作製するための方法を提供する。

【００３９】

一つの局面において、抗体またはその部分は、薬剤として用いるためである。

【００４０】

もう一つの局面において、抗体またはその部分は、喘息、アレルギー性喘息、アレルギー性鼻炎、および食物アレルギーからなる群より選択されるIgE媒介障害の処置に用いるためである。

【００４１】

一つの局面において、本発明は、先に記載した抗体またはその部分を含む薬学的組成物を提供する。

【００４２】

一つの態様において、薬学的組成物は、喘息、アレルギー性喘息、アレルギー性鼻炎、および食物アレルギーからなる群より選択されるIgE媒介障害の処置に用いるためである。もう一つの局面において、本発明は、先に記載した抗体またはその部分の治療的有効量を対象に投与する段階を含む、それを必要とする対象における喘息、アレルギー性喘息、アレルギー性鼻炎、および食物アレルギーからなる群より選択されるIgE媒介障害を処置するための方法を提供する。

【００４３】

もう一つの局面において、本発明は、喘息、アレルギー性喘息、アレルギー性鼻炎、および食物アレルギーからなる群より選択されるIgE媒介障害を処置するための薬剤を製造するために、先に記載した抗体またはその部分を用いることを提供する。

【００４４】

一つの局面において、本発明は、SEQ ID NO：1、3、11、13、21、23、31、33、41、43、51、53、61、63、71、73、81、83、91、93、101、103、105、107、109、111、121、123、131、および133からなる群より選択される核酸配列を提供する。

【００４５】

一つの局面において、本発明は、以下からなる群より選択される、ヒトIgEに対して向けられる抗体を提供する：

－SEQ ID NO：4の配列を有するH-可変ドメインと、SEQ ID NO：14の配列を有するL-可変ドメインとを含む抗体；

－SEQ ID NO：24の配列を有するH-可変ドメインと、SEQ ID NO：34の配列を有するL-可変ドメインとを含む抗体；

－SEQ ID NO：44の配列を有するH-可変ドメインと、SEQ ID NO：54の配列を有するL-可変ドメインとを含む抗体；

－SEQ ID NO：64の配列を有するH-可変ドメインと、SEQ ID NO：74の配列を有するL-可変ドメインとを含む抗体；および

－SEQ ID NO：84の配列を有するH-可変ドメインと、SEQ ID NO：94の配列を有するL-可変ドメインとを含む抗体；および

－SEQ ID NO：124の配列を有するH-可変ドメインと、SEQ ID NO：134の配列を有するL-可変ドメインとを含む抗体。

【００４６】

一つの局面において、本発明は、SEQ ID NO：2の配列を有するH-鎖と、SEQ ID NO：12

の配列を有するL-鎖とを含む、ヒトIgEに対して向けられる抗体を提供する。
【００４７】
もう一つの局面において、本発明は、SEQ ID NO：22の配列を有するH-鎖と、SEQ ID NO：32の配列を有するL-鎖とを含む、ヒトIgEに対して向けられる抗体を提供する。
【００４８】
もう一つの局面において、本発明は、SEQ ID NO：42の配列を有するH-鎖と、SEQ ID NO：52の配列を有するL-鎖とを含む、ヒトIgEに対して向けられる抗体を提供する。
【００４９】
もう一つの局面において、本発明は、SEQ ID NO：62の配列を有するH-鎖と、SEQ ID NO：72の配列を有するL-鎖とを含む、ヒトIgEに対して向けられる抗体を提供する。
【００５０】
もう一つの局面において、本発明は、SEQ ID NO：82の配列を有するH-鎖と、SEQ ID NO：92の配列を有するL-鎖とを含む、ヒトIgEに対して向けられる抗体を提供する。
【００５１】
もう一つの局面において、本発明は、SEQ ID NO：122の配列を有するH-鎖と、SEQ ID NO：132の配列を有するL-鎖とを含む、ヒトIgEに対して向けられる抗体を提供する。
【００５２】
一つの局面において、本発明は、ブダペスト条約に従って2006年11月07日にAmerican Type Culture Collection (ATCC), P.O. Box 1549, Manassas, VA 20108, USAに寄託された、ATCC寄託番号PTA-7977のインサートによってコードされるH-鎖と、ATCC寄託番号PTA-7982のインサートによってコードされるL-鎖とを含む、ヒトIgEに対して向けられる抗体を提供する。
【００５３】
もう一つの局面において、本発明は、ブダペスト条約に従って2006年11月07日にAmerican Type Culture Collection (ATCC), P.O. Box 1549, Manassas, VA 20108, USAに寄託された、ATCC寄託番号PTA-7981のインサートによってコードされるH-鎖と、ATCC寄託番号PTA-7980のインサートによってコードされるL-鎖とを含む、ヒトIgEに対して向けられる抗体を提供する。
【００５４】
もう一つの局面において、本発明は、ブダペスト条約に従って2006年11月07日にAmerican Type Culture Collection (ATCC), P.O. Box 1549, Manassas, VA 20108, USAに寄託された、ATCC寄託番号PTA-7985のインサートによってコードされるH-鎖と、ATCC寄託番号PTA-7984のインサートによってコードされるL-鎖とを含む、ヒトIgEに対して向けられる抗体を提供する。
【００５５】
もう一つの局面において、本発明は、ブダペスト条約に従って2006年11月07日にAmerican Type Culture Collection (ATCC), P.O. Box 1549, Manassas, VA 20108, USAに寄託された、ATCC寄託番号PTA-7983のインサートによってコードされるH-鎖と、ATCC寄託番号PTA-7978のインサートによってコードされるL-鎖とを含む、ヒトIgEに対して向けられる抗体を提供する。
【００５６】
もう一つの局面において、本発明は、ブダペスト条約に従って2006年11月07日にAmerican Type Culture Collection (ATCC), P.O. Box 1549, Manassas, VA 20108, USAに寄託された、ATCC寄託番号PTA-7979のインサートによってコードされるH-鎖と、ATCC寄託番号PTA-7986のインサートによってコードされるL-鎖とを含む、ヒトIgEに対して向けられる抗体を提供する。
【００５７】
一つの局面において、本発明の上記の抗体は、薬剤として用いるためである。
【００５８】
もう一つの局面において、本発明の上記の抗体は、喘息、アレルギー性喘息、アレルギ

ー性鼻炎、および食物アレルギーからなる群より選択されるIgE媒介障害の処置に用いるためである。

【００５９】

一つの局面において、本発明は、先に記載した抗体を含む薬学的組成物を提供する。

【００６０】

もう一つの局面において、該薬学的組成物は、喘息、アレルギー性喘息、アレルギー性鼻炎、および食物アレルギーからなる群より選択されるIgE媒介障害の処置に用いるためである。

【００６１】

一つの局面において、本発明は、先に記載した抗体の治療的有効量を対象に投与する段階を含む、それを必要とする対象における喘息、アレルギー性喘息、アレルギー性鼻炎、および食物アレルギーからなる群より選択されるIgE媒介障害を処置するための方法を提供する。

【００６２】

もう一つの局面において、本発明は、喘息、アレルギー性喘息、アレルギー性鼻炎、および食物アレルギーからなる群より選択されるIgE媒介障害を処置するための薬剤の製造における先に記載した抗体の使用を提供する。

【図面の簡単な説明】

【００６３】

【図１】本発明の例示的な抗IgE抗体に関するアゴニスト活性アッセイ（RBL-2H3（Fcε R1）細胞アッセイ）からの結果を示す。

【図２】本発明の例示的な抗IgE抗体に関するアゴニスト活性アッセイ（RBL-2H3（Fcε R1）細胞アッセイ）からの結果を示す。

【図３】本発明の例示的な抗IgE抗体に関するアゴニスト活性アッセイ（ヒト血中好塩基球アッセイ）からの結果を示す。

【図４】本発明の例示的な抗IgE抗体に関するアゴニスト活性アッセイ（ヒト血中好塩基球アッセイ）からの結果を示す。

【図５】本発明の例示的な抗IgE抗体のエピトープビニングマップを示す。

【発明を実施するための形態】

【００６４】

発明の詳細な説明

定義および一般的技術

本明細書においてそれ以外であると定義している場合を除き、本発明に結びつけて用いられる科学技術用語は、当業者によって一般的に理解される意味を有するであろう。さらに、本文によってそれ以外が必要とされている場合を除き、単数形には複数形が含まれ、複数形には単数形が含まれるであろう。一般的に、本明細書に記載する細胞および組織培養、分子生物学、免疫学、微生物学、遺伝子学、タンパク質および核酸化学、ならびにハイブリダイゼーションに結びつけて用いられる命名法およびそれらの技術は、当技術分野において周知であり、一般的に用いられる。

【００６５】

本発明の方法および技術は、一般的に当技術分野において周知である、ならびにそれ以外であることが示されている場合を除き、本明細書を通して引用および考察される様々な一般的でより特異的な参考文献において記載される、従来の方法に従って行われる。たとえば、 Sambrook J. & Russell D. Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 3rd ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y. (2000)；Ausubel et al., Short Protocols in Molecular Biology: A Compendium of Methods from Current Protocols in Molecular Biology, Wiley, John & Sons, Inc. (2002)；Harlow and Lane Using Antibodies: A Laboratory Manual Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y. (1998)；およびColigan et al., Short Protocols in Protein Science, Wiley, John & Sons, Inc. (2003)を参照されたい。酵素反応および精製技術は

、当技術分野において一般的に成就されているように、または本明細書において記載されているように、製造元の仕様書に従って行われる。本明細書に記載する分析化学、合成有機化学、ならびに医薬および製薬化学に結びつけて用いられる命名法ならびにそれらの実験技法および技術は、当技術分野において周知であり、一般的に用いられている。

【００６６】

本明細書および特許請求の範囲を通して、「含む」という用語、または「含む（comprises）」、または「含む（comprising）」などの変化形は、記載の整数または整数の群を含めるが、他の任意の整数または整数の群を除外しないことを意味すると理解されるであろう。

【００６７】

抗体に関する定義

本明細書において用いられるように、「生殖系列」という用語は、それらが生殖細胞を通して親から子孫に伝えられることから、抗体遺伝子および遺伝子セグメントのヌクレオチド配列およびアミノ酸配列を指す。この生殖系列配列は、B細胞成熟の過程において組換えおよび超変異事象によって変更されている成熟B細胞における抗体をコードするヌクレオチド配列とは区別される。特定の生殖系列を「利用する」抗体は、生殖系列ヌクレオチド配列またはそれが明記するアミノ酸配列と最も厳密に整列するヌクレオチドまたはアミノ酸配列を有する。そのような抗体はしばしば、生殖系列配列と比較して変異している。

【００６８】

本明細書において用いられるように、「ELISA」という用語は、酵素免疫測定アッセイを指す。このアッセイは当業者に周知である。このアッセイの例は、Vaughan, T.J. et al., Nature Biotech. 14:309-314 (1996)と共に、本出願の実施例において見いだされうる。

【００６９】

本明細書において用いられるように「表面プラズモン共鳴」という用語は、たとえばBIAcore（商標）システム（Pharmacia Biosensor AB, Uppsala, Sweden and Piscataway, NJ.）を用いて、バイオセンサーマトリクス内でのタンパク質濃度の変更を検出することによって、リアルタイムで生体特異的相互作用の分析を可能にする光学的現象を指す。さらなる説明に関しては、Jonsson et al., Ann. Biol. Clin. 51:19-26 (1993)；Jonsson et al., Biotechniques 11:620-627 (1991)；Jonsson et al., J. Mol. Recognit. 8:125-131 (1995)；およびJohnsson et al., Anal. Biochem. 198:268-277 (1991)を参照されたい。

【００７０】

「親和性」という用語は、抗原と抗体のあいだの誘引力の測定値を指す。抗原に関する抗体の内因性の誘引力は、典型的に特定の抗体-抗原相互作用の結合親和性平衡定数（K_D）として表記される。抗体は、K_Dが$\leq$1 mMである場合、好ましくは$\leq$100 nMである場合に抗原に特異的に結合すると言われる。K_D結合親和性定数は、たとえば、以下の実施例において考察されるBIAcore（商標）システムを用いる表面プラズモン共鳴によって測定することができる。

【００７１】

「k_{off}」という用語は、特定の抗体-抗原相互作用の解離速度定数を指す。k_{off}解離速度定数は、たとえば以下の実施例において考察されているBIAcore（商標）システムを用いる表面プラズモン共鳴によって測定することができる。

【００７２】

「エピトープ」という用語には、免疫グロブリンもしくはT-細胞受容体に対して特異的に結合することができる、またはそうでなければ分子と相互作用することができる任意のタンパク質決定基が含まれる。エピトープ決定基は一般的に、アミノ酸、炭水化物、または糖側鎖などの分子の化学的に活性な表面基からなり、一般的に特異的な三次元構造特徴を有すると共に特異的電荷特徴を有する。エピトープは、「直線状」または「立体構造依

存的」であってもよい。直線状エピトープの場合、タンパク質と相互作用分子（抗体などの）のあいだの相互作用点は全て、タンパク質の一次アミノ酸配列に沿って直線状に起こる。立体構造依存的エピトープの場合、相互作用点は互いに離れているタンパク質上のアミノ酸残基に渡って起こる。抗原上の所望のエピトープが決定されれば、たとえば本発明において記載される技術を用いて、そのエピトープに対する抗体を生成することが可能である。または、発見プロセスの際に、抗体を生成して特徴付けすれば、望ましいエピトープに関する情報を解明する可能性がある。この情報から、次に、同じエピトープに対する結合に関して抗体を競合的にスクリーニングすることが可能である。これを達成するためのアプローチは、互いに競合的に結合する抗体、すなわち抗原に対する結合に関して競合する抗体を発見するために、競合試験を行うことである。

【００７３】

当技術分野において公知の方法を用いることによって、抗体が同じエピトープに結合するか、または抗IgE抗体との結合に関して交差競合するかを決定することができる。一つの態様において、本発明の抗IgE抗体を飽和条件でIgEに結合させて、次に試験抗体のIgEに対する結合能を測定することができる。試験抗体が、参照抗IgE抗体と同時にIgEに結合することができれば、試験抗体は参照抗IgE抗体とは異なるエピトープに結合する。しかし、試験抗体が同時にIgEに結合することができない場合、試験抗体は同じエピトープ、重なり合うエピトープ、または本発明の抗IgE抗体が結合するエピトープに対して非常に近位に存在するエピトープに結合する。この実験は、ELISA、RIA、BIACORE（商標）、またはフローサイトメトリーを用いて行うことができる。抗IgE抗体がもう一つの抗IgE抗体と交差競合するか否かを試験するために、先に記載した競合法を二つの方向で用いてもよく、すなわち、公知の抗体が試験抗体を遮断するか否か、およびその逆を決定してもよい。好ましい態様において、実験は、BIACORE（商標）を用いて行われる。

【００７４】

その交差競合に基づいて抗体を「ビニング」するためのハイスループットプロセスは、国際特許出願公開番号WO 03/48731において記載されている。

【００７５】

本明細書において用いられるように、「ビニング」という用語は、その抗原結合特徴に基づいて抗体を群分けする方法を指す。ビンの割付は、調べた全ての抗体に関して観察された結合パターンがどれほど異なるかに応じて、いくぶん任意である。その結果、ビンは他の手段によって決定されたエピトープと必ずしも相関せず、エピトープを定義するために用いるべきではない。

【００７６】

本発明のIgE抗体

本発明は、ヒトIgEに対して向けられるヒト抗体、またはその抗原結合部分に関する。

【００７７】

それ以外であると述べている場合を除き、本明細書において用いられるように、「IgE」は、ヒトIgE（ヒト免疫グロブリンE）を指す。

【００７８】

（無傷の）「抗体」（Ab）または「免疫グロブリン」（Ig）という用語は、本明細書において用いられるように、ジスルフィド結合によって相互接続された二つの重鎖（H）（約50～70 kDa）と二つの軽鎖（L）（約25 kDa）とを含む四量体を指す。軽鎖には二つのタイプのみが存在する：λおよびκ。ヒトにおいてそれらは類似であるが、それぞれの抗体には一つのみのタイプが存在する。重鎖はミュー、デルタ、ガンマ、アルファ、またはイプシロンとして分類され、それぞれ、IgM、IgD、IgG、IgA、およびIgEとして抗体のアイソタイプを定義する。一般的に、Fundamental Immunology Ch. 7(Paul, W., ed., 2nd ed. Raven Press, N.Y. (1989)) を参照されたい。

【００７９】

それぞれの重鎖（本明細書において時にH-鎖またはHcと呼ばれる）は、重鎖可変ドメイン（V_HまたはH-可変ドメイン）と重鎖定常領域（C_H）とを含む。重鎖定常領域は三つのド

メイン、CH1、CH2、およびCH3を含む。それぞれの軽鎖（本明細書において時にL-鎖またはLcと呼ばれる）は、軽鎖可変ドメイン（V_LまたはL-可変ドメイン）と軽鎖定常領域とを含む。軽鎖定常領域は一つのドメイン、C_Lを含む。軽鎖および重鎖内で、可変領域と定常領域はアミノ酸約12個またはそれより多い「J」領域によって連結され、重鎖にはまた、アミノ酸約3個またはそれより多い「D」領域が含まれる。V_HおよびV_L領域はさらに、「フレームワーク領域」（FR）と呼ばれるより保存された領域が介在する、「相補性決定領域」（CDR）と呼ばれる超可変領域に細分することができる。それぞれのV_HおよびV_Lは、三つのCDR（H-CDRは本明細書において重鎖からのCDRを表し、L-CDRは軽鎖からのCDRを表す）と四つのFRとで構成され、アミノ末端からカルボキシル末端へと以下の順序で整列する：FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4。それぞれのドメインに対するアミノ酸の割付は、Kabat, 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)の定義に従う。

【００８０】

それぞれの重鎖／軽鎖対（V_HおよびV_L）の可変ドメインは、抗原と相互作用する抗体結合部位を形成する。このように、たとえば無傷のIgG抗体は、二つの結合部位を有する。二機能または二重特異性抗体を除き、二つの結合部位は同じである。抗体の定常領域は、免疫系の様々な細胞（たとえば、エフェクター細胞）および古典的補体系の補体第一成分（C1q）が含まれる、宿主組織または因子に対する免疫グロブリンの結合を媒介する可能性がある。

【００８１】

抗体は、そのC領域（少数のC領域）の生物学的有効性を維持しながら、可能性があるあらゆる抗原（多くのV領域）を認識するために十分な抗原結合多様性を有しなければならない。Ig遺伝子は、遺伝子セグメントから無作為に共にスプライシングされて、それによって多くのV領域を少数のC領域と共に用いることができる。Ig H、カッパ、およびラムダ鎖をコードする遺伝子セグメントは、異なる三つの染色体上で見いだされる。B細胞発達の際に、リコンビナーゼ酵素が、DNAからイントロンおよびいくつかのエキソンを除去して、セグメントを機能的Ig遺伝子にスプライシングする。

【００８２】

哺乳動物におけるIg遺伝子セグメントは、「可変」（V）、「多様性」（D）、「連結」（J）、および「定常」（C）エキソンの群に整列する。Vカッパ（V_K）セグメントはそれぞれ、カッパ鎖V領域の最初の二つのCDRと三つのFR領域に加えてCDR3の少数の残基をコードする。Jカッパ（J_K）セグメントはそれぞれ、CDR3の残りと第四のFRとをコードする。Cカッパ（C_K）は、カッパ軽鎖の完全なC領域をコードする。ヒトカッパ鎖をコードするDNAには、機能的Vカッパ（V_K）セグメントおよそ40個、Jカッパ（J_K）セグメント5個、およびCカッパ（C_K）遺伝子セグメント1個と共に、終止コドン（「偽遺伝子」）を含有するいくつかの遺伝子セグメントが含まれる。ヒトラムダ（λ）鎖DNAは、機能的Vラムダ（Vλ）セグメントおよそ30個と、Jラムダ（Jλ）およびCラムダ（Cλ）セグメントの四つの機能的な組を含有する。全て同じCカッパ（C_K）と対を形成するJカッパ（J_K）とは異なり、特定のJラムダ（Jλ）は常に、その対応するCラムダ（Cλ）と対を形成する。ヒトH鎖のDNAには、機能的V_Hセグメントおよそ50個、D_Hセグメント30個、およびJ_Hセグメント6個が含まれる。重鎖可変ドメインの最初の二つのCDRおよび三つのFRは、V_Hによってコードされる。CDR3は、V_Hの少数のヌクレオチド、D_Hの全て、およびJ_Hの一部によってコードされるが、FR4はJ_H遺伝子セグメントの残りによってコードされる。同様に、DNAにおいて、それぞれの重鎖ドメインおよびそれぞれのアイソタイプの膜領域に関して個々の遺伝子セグメントが存在し、それらはB細胞によって発現される順に整列する。

【００８３】

本発明の様々な態様において、抗IgE抗体の重鎖および軽鎖には、任意でシグナル配列が含まれてもよい。シグナルペプチドまたはリーダー配列とも呼ばれる「シグナル配列」という用語は、タンパク質を分泌させる（細胞膜を通過する）ことができるタンパク質の

N-末端のアミノ酸約15～30個のセグメントを指す。シグナル配列は、タンパク質が分泌される際に除去される。

【００８４】

「単離タンパク質」、「単離ポリペプチド」、または「単離抗体」は、その起源または由来源のために、（1）その本来の状態でそれを伴う天然に会合する成分に会合していない、（2）同じ種由来の他のタンパク質を含まない、（3）異なる種由来の細胞によって発現される、または（4）天然で起こらない、タンパク質、ポリペプチド、または抗体である。このように、化学合成されるか、またはそれが天然に由来する細胞とは異なる細胞系において合成されるポリペプチドは、その天然に会合する成分から「単離されて」いるであろう。タンパク質はまた、当技術分野において周知のタンパク質精製技術を用いて、単離によって天然に会合する成分を実質的に含まないようにされてもよい。

【００８５】

単離抗体の例には、IgEを用いてアフィニティ精製されている抗IgE抗体、およびインビトロで細胞株によって合成されている抗IgE抗体が含まれるがこれらに限定されるわけではない。

【００８６】

本明細書において用いられるように、「ヒト抗体」という用語は、可変および定常ドメイン配列がヒト配列である任意の抗体を意味する。この用語は、ヒト遺伝子に由来する配列を有するが、たとえば可能性がある免疫原性を低減させる、親和性を増加させる、望ましくないフォールディングを引き起こす可能性があるシステインを消失させる等のために変化している抗体を包含する。この用語はまた、ヒト細胞には典型ではないグリコシル化を付与する可能性がある非ヒト細胞において組換えによって産生された抗体も包含する。これらの抗体は、以下に記載するように多様な方法で調製されてもよい。特に、それらは、たとえばヒト免疫グロブリン座を担う非ヒト動物から、または完全なヒト免疫系から得ることができる。

【００８７】

本明細書において用いられるように、抗体の「抗原結合部分」（または単純に「抗体部分」）という用語は、抗原（たとえば、ヒトIgE、またはイプシロンHc C2-C4（Cε2-Cε4）およびイプシロンHc C3-C4（Cε3-Cε4）ドメインが含まれるその部分）に対する特異的結合能を保有する抗体の一つまたは複数の断片を指す。抗体の抗原結合機能は、完全長の抗体の断片によって行われうることが示されている。抗体の「抗原結合部分」という用語の中に包含される結合断片の例には、（i）V_L、V_H、C_L、およびC_H1ドメインからなる一価の断片であるFab断片；（ii）ヒンジ領域でジスルフィド架橋によって連結された二つのFab断片を含む二価の断片である$F(ab')_2$断片；（iii）V_HおよびC_H1ドメインからなるFd断片；（iv）抗体の一つのアームのV_LおよびV_HドメインからなるFv断片；（v）V_HドメインからなるdAb断片（Ward et al., (1989) Nature 341 :544-546）；および（vi）単離された相補性決定領域（CDR）が含まれる。さらに、Fv断片の二つのドメイン、すなわちV_LおよびV_Hは個別の遺伝子によってコードされるが、それらを組換え法を用いて、V_LおよびV_H領域が対を形成して一価の分子を形成する一つのタンパク質鎖（一本鎖Fv（scFv）として知られている；たとえば、Bird et al. Science 242:423-426 (1988)およびHuston et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:5879-5883 (1988)を参照されたい）としてそれらを作製することができる合成リンカーによって、連結することができる。V_Hおよび／またはV_Lを含む抗原結合分子も同様に本発明内である。V_Hの場合、分子はまた、CH1、ヒンジ、CH2、またはCH3領域の一つまたは複数を含んでもよい。そのような一本鎖抗体はまた、抗体の「抗原結合部分」という用語に包含されると意図される。ディアボディ（diabody）などの一本鎖抗体の他の型も同様に包含される。ディアボディは、V_HおよびV_Lドメインが一つのポリペプチド鎖上に発現されているが、同じ鎖上の二つのドメイン間で対を形成させるには短すぎるリンカーを用いて、それによってドメインにもう一つの鎖の相補的ドメインと対を形成させて、二つの抗原結合部位を作製する、二価の二重特異性抗体である（たとえば、Holliger et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:6444-6448 (1993)；Poljak

et al. Structure 2:1121-1123 (1994)を参照されたい）。

【００８８】

なおさらに、抗体またはその抗原結合部分は、抗体または抗体部分と、一つまたは複数の他のタンパク質またはペプチドとの共有結合的または非共有結合的会合によって形成された、より大きい免疫接着分子の一部であってもよい。そのような免疫接着分子の例には、四量体scFv分子を作製するためにストレプトアビジンコア領域を用いること（Kipriyanov et al. Human Antibodies and Hybridomas 6:93-101 (1995)）、ならびに二価のビオチニル化scFv分子を作製するために、システイン残基、マーカーペプチド、およびC-末端ポリヒスチジンタグを用いること（Kipriyanov et al. Mol. Immunol. 31:1047-1058 (1994)）が含まれる。他の例には、抗体からの一つまたは複数のCDRを共有結合的または非共有結合的に分子に組み入れて、それを関心対象抗体に特異的に結合するイムノアドヘシンにすることが含まれる。そのような態様において、CDRは、より大きいポリペプチド鎖の一部として組み入れてもよく、もう一つのポリペプチド鎖に共有結合的に連結させてもよく、または非共有結合的に組み入れてもよい。

【００８９】

Fabおよび$F(ab')_2$断片などの抗体部分はそれぞれ、全抗体のパパインまたはペプシン消化などの従来の技術を用いて全抗体から調製することができる。その上、抗体、抗体部分、および免疫接着分子は、本明細書に記載するように、標準的な組換えDNA技術を用いて得ることができる。

【００９０】

一つの態様において、本発明の抗体はモノクローナル抗体である。本明細書において用いられるように、頭字語「mAb」は、モノクローナル抗体、すなわち細胞の個々のクローン集団によって合成および分泌された抗体を指す。クローン集団は、不死化細胞のクローン集団となりうる。いくつかの態様において、クローン集団における不死化細胞は、ハイブリッド細胞、すなわち免疫した動物からの個々のBリンパ球をリンパ球腫瘍からの個々の細胞と融合させることによって典型的に産生されるハイブリドーマである。

【００９１】

本明細書において用いられるように、番号で呼ばれるモノクローナル抗体は、同じ番号のハイブリドーマから得られたモノクローナル抗体（mAb）である。たとえば、モノクローナル抗体6.605.1は、ハイブリドーマ6.605.1から得られる。

【００９２】

もう一つの態様において、本発明のモノクローナル抗体は、組換え型抗体である（以下を参照されたい）。抗IgE抗体のクラスおよびサブクラスは、当技術分野において公知の任意の方法によって決定してもよい。一般的に、抗体のクラスおよびサブクラスは、抗体の特定のクラスおよびサブクラスに対して特異的な抗体を用いて決定してもよい。そのような抗体は市販されている。クラスおよびサブクラスは、ELISA、ウェスタンブロットと共に他の技術によって決定することができる。または、クラスおよびサブクラスは、抗体の重鎖および／または軽鎖の定常ドメインの全てまたは部分をシークエンシングする段階、そのアミノ酸配列を、免疫グロブリンの様々なクラスおよびサブクラスの公知のアミノ酸配列と比較する段階、ならびに抗体のクラスおよびサブクラスを決定する段階によって決定してもよい。

【００９３】

先に記載したように得られた抗IgE抗体のクラスを、もう一つのクラスにスイッチしてもよい。本発明の一つの局面において、V_LまたはV_Hをコードする核酸分子は、C_LまたはC_Hをコードする核酸配列が含まれないように、当技術分野において周知の方法を用いて単離される。「Antibody Engineering」（Kontermann & Dubel, Eds., Springer-Verlag, Berlin (2001)）。次に、V_LまたはV_Hをコードする核酸分子をそれぞれ、異なるクラスの免疫グロブリン分子からのC_LまたはC_Hをコードする核酸配列に機能的に連結させる。これは、先に記載したようにC_LまたはC_H鎖を含むベクターまたは核酸分子を用いて達成してもよい。たとえば、当初IgMである抗IgE抗体をIgGにクラススイッチしてもよい。さらに、クラ

ススイッチを用いて、一つのIgGサブクラスをもう一つのクラスに変換する、たとえばIgG1からIgG2に変換してもよい。所望のアイソタイプを含む本発明の抗体を産生するための好ましい方法は、抗IgE抗体の重鎖をコードする核酸分子および抗IgE抗体の軽鎖をコードする核酸分子を単離する段階、重鎖の可変ドメインを得る段階、重鎖の可変ドメインを、所望のアイソタイプの重鎖の定常ドメインとライゲーションする段階、軽鎖およびライゲーションした重鎖を細胞において発現させる段階、ならびに所望のアイソタイプを有する抗IgE抗体を収集する段階を含む。

【００９４】

本発明の抗IgE抗体は、IgG、IgM、IgE、IgA、またはIgD分子となりうる。好ましい態様において、抗IgE抗体はIgGであり、IgG1、IgG2、IgG3、またはIgG4サブクラスである。もう一つの好ましい態様において、抗体はサブクラスIgG2である。

【００９５】

本発明の単離抗体の例には、ヒトIgEを用いてアフィニティ精製されている抗IgE抗体、インビトロで細胞株によって合成されている抗IgE抗体が含まれるがこれらに限定されるわけではない。

【００９６】

血清枯渇アッセイ

一つの局面において、本発明は、ヒトIgEに対して向けられるヒト抗体、またはその抗原結合部分を提供し、該抗体は約0.1～30μg/mLの$IC_{25ng/mL}$（100-5000 ng/mL）を有し、$IC_{25ng/mL}$（100-5000 ng/mL）は、血清試料中の遊離のIgE濃度を約100～5000 ng/mLの範囲の初回濃度から約25 ng/mLの濃度まで低減させるために必要な抗体のインビトロ濃度として定義される。一つの態様において、抗体、またはその部分は、約0.1～25μg/mL、好ましくは0.1～20μg/mL、好ましくは0.1～17μg/mL、好ましくは0.1～15μg/mL、好ましくは0.1～11μg/mL、最も好ましくは0.1～2μg/mLの$IC_{25ng/mL}$（100-5000 ng/mL）を有する。

【００９７】

一つの態様において、抗体またはその部分は、約1～25μg/mL、好ましくは1～5μg/mL、好ましくは1～2μg/mLの$IC_{25ng/mL}$（100-1500 ng/mL）を有する。

【００９８】

より一般的に、$IC_{25ng/mL}$（x-y ng/mL）は、本明細書において、血清試料中の遊離のIgE濃度を、約x～y ng/mLの範囲の初回濃度から約25 ng/mLの濃度まで低減させるために必要な抗体のインビトロ濃度として定義される。

【００９９】

もう一つの局面において、本発明は、ヒトIgEに対して向けられるヒト抗体、またはその抗原結合部分を提供し、該抗体は約1～25μg/mLの$IC_{25ng/mL}$（500-1500 ng/mL）を有し、$IC_{25ng/mL}$（500-1500 ng/mL）は、血清試料中の遊離のIgE濃度を約500～1500 ng/mLの範囲の初回濃度から約25 ng/mLの濃度まで低減させるために必要な抗体のインビトロ濃度として定義される。一つの態様において、抗体、またはその部分は、約1～20μg/mL、好ましくは1～15μg/mL、好ましくは1～10μg/mL、好ましくは1～5μg/mL、最も好ましくは2μg/mLの$IC_{25ng/mL}$（500-1500 ng/mL）を有する。

【０１００】

もう一つの局面において、本発明は、ヒトIgEに対して向けられるヒト抗体、またはその抗原結合部分を提供し、該抗体は約0.1～15μg/mLの$IC_{25ng/mL}$（100-500 ng/mL）を有し、$IC_{25ng/mL}$（100-500 ng/mL）は、血清試料中の遊離のIgE濃度を約100～500 ng/mLの範囲の初回濃度から約25 ng/mLの濃度まで低減させるために必要な抗体のインビトロ濃度として定義される。一つの態様において、抗体またはその部分は、約0.1～10μg/mL、0.1～8μg/mL、好ましくは0.1～5μg/mL、好ましくは0.1～4μg/mL、好ましくは0.1～3μg/mL、好ましくは1.2μg/mLの$IC_{25ng/mL}$（100-500 ng/mL）を有する。

【０１０１】

もう一つの局面において、本発明は、ヒトIgEに対して向けられるヒト抗体、またはそ

の抗原結合部分を提供し、該抗体は約1～30μg/mLの$IC_{25ng/mL}$（1500-5000 ng/mL）を有し、$IC_{25ng/mL}$（1500-5000 ng/mL）は、血清試料中の遊離のIgE濃度を約1500～5000 ng/mLの範囲の初回濃度から約25 ng/mLの濃度まで低減させるために必要な抗体のインビトロ濃度として定義される。一つの態様において、抗体またはその部分は、約1～28μg/mL、好ましくは1～27μg/mL、好ましくは2～26μg/mL、好ましくは2～25μg/mLの$IC_{25ng/mL}$（1500-5000 ng/mL）を有する。

【０１０２】

所定の試験抗体の$IC_{25ng/mL}$（x-y ng/mL）を、遊離のIgE血清枯渇試験によって決定してもよい。基礎となる原理は、血清試料を該試験抗体と共にインキュベートして、血清中の遊離のIgEを該試験抗体に結合させることである。その後、試験抗体に結合していないIgEの量（分画）を、たとえば既に形成された（試験抗体）-IgE複合体を除去した後に、ELISA検出アッセイを用いて検出および測定することができる。

【０１０３】

遊離のIgEは、循環中の非結合IgE、すなわち抗体に結合していない、および任意の細胞または受容体に結合していないIgEに対応する。

【０１０４】

より正確に、$IC_{25ng/mL}$（x-y ng/mL）は、以下の段階を含むアッセイ法を用いて決定されうる：

a）x-y ng/mLの範囲の初回の遊離のIgE濃度を有するヒト血清試料を提供する段階；

b）試験抗体（試験抗IgE抗体）を提供する段階；

c）プレート上にコーティングされた捕獲試薬と同じ試験抗体を用いてELISAプレート（または他の任意の適したELISA固体試薬）を調製する段階；

d）段階a）において提供された血清試料を段階b）において提供された試験抗体と共にインキュベートして、このようにインキュベーション混合物を提供する段階；

e）段階d）のインキュベーション混合物を、段階c）において調製したELISAプレートと共にインキュベートする段階；

f）段階e）のELISAプレートを洗浄する段階；

g）ELISAプレート上に結合したままであるIgEの量を検出および測定する段階。

【０１０５】

当業者は、ヒト対象を起源とする血液試料から開始して血清試料を調製する方法を承知している。たとえば、これは、ガラス製の血清チューブ（たとえば、Becton Dickinson、カタログ番号366636）に血液を収集する段階、60分間凝固させた後500×gで10分間遠心する段階、および血清上清を収集する段階を伴う。その最初の遊離のIgE濃度を調節するために、たとえばELISAにおいて用いられるものと同じ緩衝液、たとえば以下の実施例において記載される1%BSA/TBSによってヒト血清試料を希釈してもよい。総IgE濃度は、標準的なELISAアッセイを用いて、たとえば市販のキット（たとえば、IBLまたはBethyl marketのそのような検出キット）を用いて容易に測定することができる。典型的に、最初の遊離のIgE濃度は、約100～5000 ng/mLである。一つの局面において、最初の遊離のIgE濃度は約100～500 ng/mL、約500～1500 ng/mL、または約1500～5000 ng/mLである。当業者はまた、段階c）において提供されるELISAプレートを調製する方法を承知している。これは典型的に、適したウェルプレート（典型的に、抗体の吸着がその後の所望の反応を妨害しないプレート、たとえばNunc Maxisorp（商標）96-ウェルプレート（Fisher Scientific、カタログ番号DIS-971-010P））上で所望の試験-抗体をインキュベートすることによって行ってもよい。抗体は一般的に、適した緩衝液、たとえばTBSにおいて溶液中で用いられる。インキュベーションは、プレートの適したコーティングが得られるように、一般的におおよそ4℃で約10、12、または16時間持続してもよく、その後たとえばTween-TBS緩衝液によって1回または数回の洗浄段階を行ってもよい。次に、プレートをたとえば1%BSA-TBSを用いてブロックする。ブロッキングは、たとえばRTで1時間行うことができ、その後段階d）において用いる前にプレートを再度洗浄する（たとえば、Tween-TBSによって）。

【０１０６】

段階d）のインキュベーションは、約10、12、または16時間行ってもよい。インキュベーション温度は一般的におよそ37℃である。インキュベーション条件には典型的に、5％CO_2を有する湿潤大気が含まれる。遊離のIgEが捕獲試薬（段階c）のELISAプレート）に結合するが、（試験-抗体）-IgE複合体は結合しないことを示すために、対照アッセイを用いてもよい。

【０１０７】

段階e）のインキュベーションは、たとえばRTで約2時間行ってもよい。遊離のIgEが捕獲試薬（段階c）のELISAプレート）に結合するが、（試験-抗体）-IgE複合体は結合しないことを示すために、対照アッセイを用いてもよい。

【０１０８】

段階f）の洗浄は、たとえばTween-TBSによる1回または数回の洗浄段階を伴ってもよい。この段階は、全ての（試験-抗体）-IgE複合体がELISAプレート上のウェルから確実に除去されるようにすべきである。

【０１０９】

段階g）に関して、当業者は、結果を較正するために市販のヒトIgE標準物質を用いてもよい。段階f）における検出および測定は、たとえば標識ポリクローナル抗IgE抗体を用いて行うことができる。そのようなポリクローナル抗IgE抗体は、特にビオチニル化型が市販されている。次に、その後の検出はストレプトアビジン-HRP試薬（同様に市販されている）を使用してもよい。

【０１１０】

一つの態様において、本発明に従う抗IgE抗体またはその部分は、SEQ ID NO：10、30、50、70、90および130からなる群より選択される配列を有するH-CDR3を含む。一つの態様において、抗IgE抗体またはその部分は、SEQ ID NO：20、40、60、80、100、および140からなる群より選択される配列を有するL-CDR3を含む。

【０１１１】

もう一つの態様において、抗IgE抗体またはその部分は、以下からなる群より選択される：

－SEQ ID NO：6、8、10の配列をそれぞれ有するH-CDR（H-CDR1、H-CDR2、H-CDR3）のH-CDRの組を含む抗体；

－SEQ ID NO：26、28、30の配列をそれぞれ有するH-CDR（H-CDR1、H-CDR2、H-CDR3）のH-CDRの組を含む抗体；

－SEQ ID NO：46、48、50の配列をそれぞれ有するH-CDR（H-CDR1、H-CDR2、H-CDR3）のH-CDRの組を含む抗体；

－SEQ ID NO：66、68、70の配列をそれぞれ有するH-CDR（H-CDR1、H-CDR2、H-CDR3）のH-CDRの組を含む抗体；

－SEQ ID NO：86、88、90の配列をそれぞれ有するH-CDR（H-CDR1、H-CDR2、H-CDR3）のH-CDRの組を含む抗体；および

－SEQ ID NO：126、128、130の配列をそれぞれ有するH-CDR（H-CDR1、H-CDR2、H-CDR3）のH-CDRの組を含む抗体。

【０１１２】

もう一つの態様において、抗IgE抗体またはその部分は、以下からなる群より選択される：

－SEQ ID NO：16、18、20の配列をそれぞれ有するL-CDR（L-CDR1、L-CDR2、L-CDR3）のL-CDRの組を含む抗体；

－SEQ ID NO：36、38、40の配列をそれぞれ有するL-CDR（L-CDR1、L-CDR2、L-CDR3）のL-CDRの組を含む抗体；

－SEQ ID NO：56、58、60の配列をそれぞれ有するL-CDR（L-CDR1、L-CDR2、L-CDR3）のL-CDRの組を含む抗体；

－SEQ ID NO：76、78、80の配列をそれぞれ有するL-CDR（L-CDR1、L-CDR2、L-CDR3）のL-CDRの組を含む抗体；および

－SEQ ID NO：96、98、100の配列をそれぞれ有するL-CDR（L-CDR1、L-CDR2、L-CDR3）のL-CDRの組を含む抗体；および
－SEQ ID NO：136、138、140の配列をそれぞれ有するL-CDR（L-CDR1、L-CDR2、L-CDR3）のL-CDRの組を含む抗体。

【０１１３】

一つの態様において、抗IgE抗体またはその部分は、以下からなる群より選択される：
－SEQ ID NO：10の配列を有するH-CDR3とSEQ ID NO：20の配列を有するLCDR3とを含む抗体；
－SEQ ID NO：30の配列を有するH-CDR3とSEQ ID NO：40の配列を有するLCDR3とを含む抗体；
－SEQ ID NO：50の配列を有するH-CDR3とSEQ ID NO：60の配列を有するLCDR3とを含む抗体；
－SEQ ID NO：70の配列を有するH-CDR3とSEQ ID NO：80の配列を有するLCDR3とを含む抗体；
－SEQ ID NO：90の配列を有するH-CDR3とSEQ ID NO：100の配列を有するLCDR3とを含む抗体；
－SEQ ID NO：130の配列を有するH-CDR3とSEQ ID NO：140の配列を有するLCDR3とを含む抗体。

【０１１４】

もう一つの態様において、抗IgE抗体またはその部分は、以下からなる群より選択される：
－SEQ ID NO：6、8、10の配列をそれぞれ有するH-CDR（H-CDR1、H-CDR2、H-CDR3）のH-CDRの組と、SEQ ID NO：16、18、20の配列をそれぞれ有するL-CDR（L-CDR1、L-CDR2、L-CDR3）のL-CDRの組とを含む抗体；
－SEQ ID NO：26、28、30の配列をそれぞれ有するH-CDR（H-CDR1、H-CDR2、H-CDR3）のH-CDRの組と、SEQ ID NO：36、38、40の配列をそれぞれ有するL-CDR（L-CDR1、L-CDR2、L-CDR3）のL-CDRの組とを含む抗体；
－SEQ ID NO：46、48、50の配列をそれぞれ有するH-CDR（H-CDR1、H-CDR2、H-CDR3）のH-CDRの組と、SEQ ID NO：56、58、60の配列をそれぞれ有するL-CDR（L-CDR1、L-CDR2、L-CDR3）のL-CDRの組とを含む抗体；
－SEQ ID NO：66、68、70の配列をそれぞれ有するH-CDR（H-CDR1、H-CDR2、H-CDR3）のH-CDRの組と、SEQ ID NO：76、78、80の配列をそれぞれ有するL-CDR（L-CDR1、L-CDR2、L-CDR3）のL-CDRの組とを含む抗体；
－SEQ ID NO：86、88、90の配列をそれぞれ有するH-CDR（H-CDR1、H-CDR2、H-CDR3）のH-CDRの組と、SEQ ID NO：96、98、100の配列をそれぞれ有するL-CDR（L-CDR1、L-CDR2、L-CDR3）のL-CDRの組とを含む抗体；および
－SEQ ID NO：126、128、130の配列をそれぞれ有するH-CDR（H-CDR1、H-CDR2、H-CDR3）のH-CDRの組と、SEQ ID NO：136、138、140の配列をそれぞれ有するL-CDR（L-CDR1、L-CDR2、L-CDR3）のL-CDRの組とを含む抗体。

【０１１５】

もう一つの態様において、抗IgE抗体またはその部分は、以下からなる群より選択される：
－SEQ ID NO：4の配列を有するH-可変ドメインを含む抗体；
－SEQ ID NO：24の配列を有するH-可変ドメインを含む抗体；
－SEQ ID NO：44の配列を有するH-可変ドメインを含む抗体；
－SEQ ID NO：64の配列を有するH-可変ドメインを含む抗体；
－SEQ ID NO：84の配列を有するH-可変ドメインを含む抗体；および
－SEQ ID NO：124の配列を有するH-可変ドメインを含む抗体。

【０１１６】

もう一つの態様において、抗IgE抗体またはその部分は、以下からなる群より選択され

る：
－SEQ ID NO：14の配列を有するL-可変ドメインを含む抗体；
－SEQ ID NO：34の配列を有するL-可変ドメインを含む抗体；
－SEQ ID NO：54の配列を有するL-可変ドメインを含む抗体；
－SEQ ID NO：74の配列を有するL-可変ドメインを含む抗体；
－SEQ ID NO：94の配列を有するL-可変ドメインを含む抗体；および
－SEQ ID NO：134の配列を有するL-可変ドメインを含む抗体。

【０１１７】

もう一つの態様において、抗IgE抗体またはその部分は、以下からなる群より選択される：
－SEQ ID NO：4の配列を有するH-可変ドメインと、SEQ ID NO：14の配列を有するL-可変ドメインとを含む抗体；
－SEQ ID NO：24の配列を有するH-可変ドメインと、SEQ ID NO：14の配列を有するL-可変ドメインとを含む抗体；
－SEQ ID NO：24の配列を有するH-可変ドメインと、SEQ ID NO：34の配列を有するL-可変ドメインとを含む抗体；
－SEQ ID NO：4の配列を有するH-可変ドメインと、SEQ ID NO：34の配列を有するL-可変ドメインとを含む抗体；
－SEQ ID NO：44の配列を有するH-可変ドメインと、SEQ ID NO：54の配列を有するL-可変ドメインとを含む抗体；
－SEQ ID NO：64の配列を有するH-可変ドメインと、SEQ ID NO：54の配列を有するL-可変ドメインとを含む抗体；
－SEQ ID NO：44の配列を有するH-可変ドメインと、SEQ ID NO：74の配列を有するL-可変ドメインとを含む抗体；
－SEQ ID NO：64の配列を有するH-可変ドメインと、SEQ ID NO：74の配列を有するL-可変ドメインとを含む抗体；
－SEQ ID NO：84の配列を有するH-可変ドメインと、SEQ ID NO：94の配列を有するL-可変ドメインとを含む抗体；および
－SEQ ID NO：124の配列を有するH-可変ドメインと、SEQ ID NO：134の配列を有するL-可変ドメインとを含む抗体。

【０１１８】

もう一つの態様において、抗IgE抗体またはその部分は、以下からなる群より選択される：
－SEQ ID NO：2の配列を有するH-鎖を含む抗体；
－SEQ ID NO：22の配列を有するH-鎖を含む抗体；
－SEQ ID NO：42の配列を有するH-鎖を含む抗体；
－SEQ ID NO：62の配列を有するH-鎖を含む抗体；
－SEQ ID NO：82の配列を有するH-鎖を含む抗体；および
－SEQ ID NO：122の配列を有するH-鎖を含む抗体。

【０１１９】

もう一つの態様において、抗IgEまたはその部分は、以下からなる群より選択される：
－SEQ ID NO：12の配列を有するL-鎖を含む抗体；
－SEQ ID NO：32の配列を有するL-鎖を含む抗体；
－SEQ ID NO：52の配列を有するL-鎖を含む抗体；
－SEQ ID NO：72の配列を有するL-鎖を含む抗体；
－SEQ ID NO：92の配列を有するL-鎖を含む抗体；および
－SEQ ID NO：132の配列を有するL-鎖を含む抗体。

【０１２０】

もう一つの態様において、抗IgEまたはその部分は、以下からなる群より選択される：
－SEQ ID NO：2の配列を有するH-鎖と、SEQ ID NO：12の配列を有するL-鎖とを含む抗

体；
－SEQ ID NO：22の配列を有するH-鎖と、SEQ ID NO：12の配列を有するL-鎖とを含む抗体；
－SEQ ID NO：22の配列を有するH-鎖と、SEQ ID NO：32の配列を有するL-鎖とを含む抗体；
－SEQ ID NO：2の配列を有するH-鎖と、SEQ ID NO：32の配列を有するL-鎖とを含む抗体；
－SEQ ID NO：42の配列を有するH-鎖と、SEQ ID NO：52の配列を有するL-鎖とを含む抗体；
－SEQ ID NO：62の配列を有するH-鎖と、SEQ ID NO：52の配列を有するL-鎖とを含む抗体；
－SEQ ID NO：62の配列を有するH-鎖と、SEQ ID NO：72の配列を有するL-鎖とを含む抗体；
－SEQ ID NO：42の配列を有するH-鎖と、SEQ ID NO：72の配列を有するL-鎖とを含む抗体；
－SEQ ID NO：82の配列を有するH-鎖と、SEQ ID NO：92の配列を有するL-鎖とを含む抗体；
－SEQ ID NO：82の配列を有するH-鎖と、SEQ ID NO：132の配列を有するL-鎖とを含む抗体；
－SEQ ID NO：122の配列を有するH-鎖と、SEQ ID NO：92の配列を有するL-鎖とを含む抗体；および
－SEQ ID NO：122の配列を有するH-鎖と、SEQ ID NO：132の配列を有するL-鎖とを含む抗体。

【０１２１】

もう一つの態様において、抗IgE抗体またはその部分（該部分が重鎖定常領域の少なくとも一部を含む程度に）は、IgG1またはIgG2サブタイプの抗体である。

【０１２２】

本発明の例示的な好ましい抗体には、以下の抗体が含まれる：
－mAb 5.396.1（ハイブリドーマによって産生される）；
－組換え型5.396.1；
－5.396.1 Hc-S103N Lc-K61R、同様に時に5.396.1（Hc-S103N Lc-K61R）、5.396.1（S103N/K61R）、または5.396.1 N/Rとも呼ばれる（すなわち、重鎖Hcおよび軽鎖Lcにおける表記のアミノ酸置換を除き、5.396.1 mAbと同じ鎖の配列を有する）；
－mAb 6.605.1（ハイブリドーマによって産生される）；
－組換え型6.605.1；
－6.605.1 Hc-H3Q,M13K,D82E Lc-T25A,T53S、同様に時に6.605.1（H3Q,M13K,D82E-T25A,T53S）、または6.605.1 QKE/ASとも呼ばれる（すなわち、重鎖Hcおよび軽鎖Lcにおける表記のアミノ酸置換を除き、6.605.1 mAbと同じ鎖の配列を有する）；
－mAb 5.948.1（ハイブリドーマによって産生される）；
－組換え型5.948.1.；
－5.948.1 Hc-H100Y、同様に時に5.948.1 H100Yと呼ばれる（すなわち、Hcにおける表記のアミノ酸置換を除き、5.948.1 mAbと同じ鎖の配列を有する）。

【０１２３】

これらの抗体を、以下の実施例においてより詳細に記載する。

【０１２４】

さらなる態様において、抗IgE抗体またはその部分は、以下からなる群より選択される：
－SEQ ID NO：1の核酸配列によってコードされるH-鎖配列と、SEQ ID NO：11の核酸配列によってコードされるL-鎖配列とを含む抗体；
－SEQ ID NO：21の核酸配列によってコードされるH-鎖配列と、SEQ ID NO：31の核酸配

列によってコードされるL-鎖配列とを含む抗体；
－SEQ ID NO：41の核酸配列によってコードされるH-鎖配列と、SEQ ID NO：51の核酸配列によってコードされるL-鎖配列とを含む抗体；
－SEQ ID NO：61の核酸配列によってコードされるH-鎖配列と、SEQ ID NO：71の核酸配列によってコードされるL-鎖配列とを含む抗体；
－SEQ ID NO：81の核酸配列によってコードされるH-鎖配列と、SEQ ID NO：91の核酸配列によってコードされるL-鎖配列とを含む抗体；および
－SEQ ID NO：121の核酸配列によってコードされるH-鎖配列と、SEQ ID NO：131の核酸配列によってコードされるL-鎖配列とを含む抗体。

【０１２５】
一つの局面において、本発明は、SEQ ID NO：2の配列を有するH-鎖と、SEQ ID NO：12の配列を有するL-鎖とを含む、ヒトIgEに対して向けられる抗体を提供する。

【０１２６】
もう一つの局面において、本発明は、SEQ ID NO：22の配列を有するH-鎖と、SEQ ID NO：32の配列を有するL-鎖とを含む、ヒトIgEに対して向けられる抗体を提供する。

【０１２７】
もう一つの局面において、本発明は、SEQ ID NO：42の配列を有するH-鎖と、SEQ ID NO：52の配列を有するL-鎖とを含む、ヒトIgEに対して向けられる抗体を提供する。

【０１２８】
もう一つの局面において、本発明は、SEQ ID NO：62の配列を有するH-鎖と、SEQ ID NO：72の配列を有するL-鎖とを含む、ヒトIgEに対して向けられる抗体を提供する。

【０１２９】
もう一つの局面において、本発明は、SEQ ID NO：82の配列を有するH-鎖と、SEQ ID NO：92の配列を有するL-鎖とを含む、ヒトIgEに対して向けられる抗体を提供する。

【０１３０】
もう一つの局面において、本発明は、SEQ ID NO：122の配列を有するH-鎖と、SEQ ID NO：132の配列を有するL-鎖とを含む、ヒトIgEに対して向けられる抗体を提供する。

【０１３１】
一つの局面において、本発明は、ブダペスト条約に従って2006年11月07日にAmerican Type Culture Collection (ATCC), P.O. Box 1549, Manassas, VA 20108, USAに寄託された、ATCC寄託番号PTA-7977のインサートによってコードされるH-鎖と、ATCC寄託番号PTA-7982のインサートによってコードされるL-鎖とを含む、ヒトIgEに対して向けられる抗体を提供する。

【０１３２】
もう一つの局面において、本発明は、ブダペスト条約に従って2006年11月07日にAmerican Type Culture Collection (ATCC), P.O. Box 1549, Manassas, VA 20108, USAに寄託された、ATCC寄託番号PTA-7981のインサートによってコードされるH-鎖と、ATCC寄託番号PTA-7980のインサートによってコードされるL-鎖とを含む、ヒトIgEに対して向けられる抗体を提供する。

【０１３３】
もう一つの局面において、本発明は、ブダペスト条約に従って2006年11月07日にAmerican Type Culture Collection (ATCC), P.O. Box 1549, Manassas, VA 20108, USAに寄託された、ATCC寄託番号PTA-7985のインサートによってコードされるH-鎖と、ATCC寄託番号PTA-7984のインサートによってコードされるL-鎖とを含む、ヒトIgEに対して向けられる抗体を提供する。

【０１３４】
もう一つの局面において、本発明は、ブダペスト条約に従って2006年11月07日にAmerican Type Culture Collection (ATCC), P.O. Box 1549, Manassas, VA 20108, USAに寄託された、ATCC寄託番号PTA-7983のインサートによってコードされるH-鎖と、ATCC寄託番号PTA-7978のインサートによってコードされるL-鎖とを含む、ヒトIgEに対して向けられる

抗体を提供する。

【０１３５】

もう一つの局面において、本発明は、ブダペスト条約に従って2006年11月07日にAmerican Type Culture Collection (ATCC), P.O. Box 1549, Manassas, VA 20108, USAに寄託された、ATCC寄託番号PTA-7979のインサートによってコードされるH-鎖と、ATCC寄託番号PTA-7986のインサートによってコードされるL-鎖とを含む、ヒトIgEに対して向けられる抗体を提供する。

【０１３６】

もう一つの局面において、本発明は、アミノ酸置換1、2、3、4、5、6、7、8、9、または10個によって抗体またはその部分と異なる、先に記載した抗体またはその部分の変種を提供する。

【０１３７】

本発明のさらなる局面は、既に記載された機能的特性の少なくとも一つを有し、SEQ ID NO：4、24、44、64、84、または124のいずれか一つとアミノ酸配列が少なくとも90％同一であるV_Hドメインを含む、抗体またはその抗原結合部分である。一つの態様において、該V_Hドメインは、SEQ ID NO：4、24、44、64、84、または124のいずれか一つとアミノ酸配列が少なくとも91％、少なくとも93％、少なくとも95％、少なくとも97％、少なくとも99％、または少なくとも100％同一である。

【０１３８】

本発明のさらなる局面は、既に記載された機能的特性の少なくとも一つを有し、SEQ ID NO：14、34、54、74、94、または134のいずれか一つとアミノ酸配列が少なくとも90％同一であるV_Lドメインを含む、抗体またはその抗原結合部分である。一つの態様において、該V_Hドメインは、SEQ ID NO：14、34、54、74、94、または134のいずれか一つとアミノ酸配列が少なくとも91％、少なくとも93％、少なくとも95％、少なくとも97％、少なくとも99％、または少なくとも100％同一である。

【０１３９】

ポリペプチドに関する配列類似性は、配列同一性とも呼ばれ、典型的に、配列分析ソフトウェアを用いて測定される。タンパク質分析ソフトウェアは、保存的アミノ酸置換が含まれる様々な置換、欠失、および他の改変に割付された類似性の測定を用いて、類似の配列をマッチさせる。たとえば、GCGは、「Gap」および「Bestfit」などのプログラムを含有し、これらは、異なる生物種からの相同なポリペプチドなどの近縁のポリペプチドのあいだの、または野生型タンパク質とその変異タンパク質のあいだの配列相同性または配列同一性を決定するために、デフォルトパラメータと共に用いることができる。たとえば、GCGバージョン6.1を参照されたい。ポリペプチド配列はまた、GCGバージョン6.1におけるプログラムであるFASTAを用いて、デフォルトまたは推奨されるパラメータを用いて比較することができる。FASTA（たとえば、FASTA2およびFASTA3）は、問い合わせおよび検索配列のあいだの最善のオーバーラップの領域の整列および％配列同一性を提供する（Pearson, Methods Enzymol. 183:63-98 (1990)；Pearson, Methods Mol. Biol. 132:185-219 (2000)）。本発明の配列を、異なる生物からの多数の配列を含有するデータベースと比較する場合のもう一つの好ましいアルゴリズムは、デフォルトパラメータを用いるコンピュータープログラムBLAST、特にblastpまたはtblastnである。たとえば、参照により本明細書に組み入れられる、Altschul et al., J. Mol. Biol. 215:403-410 (1990)；Altschul et al., Nucleic Acids Res. 25:3389-402 (1997)を参照されたい。

【０１４０】

相同性のために比較されるポリペプチド配列の長さは一般的に、アミノ酸残基少なくとも約16個、通常少なくとも約20残基、より通常少なくとも約24残基、典型的に少なくとも約28残基、および好ましくは約35残基より多いであろう。多数の異なる生物からの配列を含有するデータベースを検索する場合、アミノ酸配列を比較することが好ましい。

【０１４１】

本明細書において用いられるように、「アミノ酸」は、以下の表に示されるように、そ

の完全な名称によって、それに対応する三文字コードによって、それに対応する一文字コードによって表される：

完全な名称	3文字コード	1文字コード
アスパラギン酸	Asp	D
グルタミン酸	Glu	E
リジン	Lys	K
アルギニン	Arg	R
ヒスチジン	His	H
チロシン	Tyr	Y
システイン	Cys	C
アスパラギン	Asn	N
グルタミン	Gln	Q
セリン	Ser	S
トレオニン	Thr	T
グリシン	Gly	G
アラニン	Ala	A
バリン	Val	V
ロイシン	Leu	L
イソロイシン	Ile	I
メチオニン	Met	M
プロリン	Pro	P
フェニルアラニン	Phe	F
トリプトファン	Trp	W

【０１４２】

本明細書において用いられるように、従来のアミノ酸20個およびその省略語は、通常の使用に従う。Immunology - A Synthesis (2nd Edition, E. S. Golub and D. R. Gren, Eds., Sinauer Associates, Sunderland, Mass. (1991)) を参照されたい。

【０１４３】

本発明に従って、作製されてもよいアミノ酸置換の一つのタイプは、化学的に反応性である可能性がある抗体中の一つまたは複数のシステインを、アラニンまたはセリンなどの、しかしこれらに限定されないもう一つの残基に変化させることである。一つの態様において、非カノニカルシステインの置換が存在する。置換は、抗体の可変ドメインのCDRもしくはフレームワーク領域において、または定常ドメインにおいて作製することができる。いくつかの態様において、システインはカノニカルである。

【０１４４】

作製してもよいもう一つのタイプのアミノ酸置換は、抗体における起こりうるタンパク質分解部位を除去することである。そのような部位は、抗体の可変ドメインのCDRもしくはフレームワーク領域においてまたは定常ドメインにおいて起こる可能性がある。システイン残基の置換、およびタンパク質分解部位の除去は、抗体産物における不均一性のリスクを減少させ、このようにその均一性を増加させる可能性がある。もう一つのタイプのアミノ酸置換は、残基の一つまたは双方を変更することによって、可能性がある脱アミド化部位を形成するアスパラギン-グリシン対を消失させることである。

【０１４５】

本発明に従う変種の一つにおいて作製してもよいもう一つのタイプのアミノ酸置換は、保存的アミノ酸置換である。「保存的アミノ酸置換」は、アミノ酸残基が、類似の化学特性（たとえば、電荷または疎水性）を有する側鎖R基を有するもう一つのアミノ酸残基によって置換される置換である。一般的に、保存的アミノ酸置換は、タンパク質の機能的特

性を実質的に変化させないであろう。二つまたはそれより多いアミノ酸配列が、保存的置換によって互いに異なる場合、置換の保存的性質に関して補正するために、％配列同一性または類似性の程度を上方に調節してもよい。この調節を作製する手段は、当業者に周知である。たとえば、Pearson, Methods Mol. Biol. 243:307-31 (1994)を参照されたい。

【０１４６】

類似の化学特性を有する側鎖を有するアミノ酸の群の例には、1）脂肪族側鎖：グリシン、アラニン、バリン、ロイシン、およびイソロイシン；2）脂肪族-ヒドロキシル側鎖：セリンおよびトレオニン；3）アミド含有側鎖：アスパラギンおよびグリシン；4）芳香族側鎖：フェニルアラニン、チロシン、およびトリプトファン；5）塩基性側鎖：リジン、アルギニン、およびヒスチジン；6）酸性側鎖：アスパラギン酸およびグルタミン酸；ならびに7）イオウ含有側鎖：システインおよびメチオニンが含まれる。好ましい保存的アミノ酸置換基は：バリン-ロイシン-イソロイシン、フェニルアラニン-チロシン、リジン-アルギニン、アラニン-バリン、グルタミン酸塩-アスパラギン酸塩、およびアスパラギン-グルタミンである。

【０１４７】

または、保存的交換は、Gonnet et al., Science 256:1443-45 (1992)において開示されるPAM250 対数尤度行列において陽性値を有する任意の変化である。「中等度に保存的な」交換は、PAM250 対数尤度行列において負でない値を有する任意の変化である。

【０１４８】

一定の態様において、本発明の抗体またはその抗原結合部分に対するアミノ酸置換は：（1）タンパク質分解に対する感受性を低減させる、（2）酸化に対する感受性を低減させる、（3）タンパク質複合体を形成するために結合親和性を変更する、および（4）そのような類似体の他の物理化学的または機能的特性を付与または改変するが、なおもヒトIgEに対する特異的結合を保有する置換である。類似体には、通常存在するペプチド配列に対する様々な置換が含まれうる。たとえば、一つまたは多数のアミノ酸置換、好ましくは保存的アミノ酸置換を、通常存在する配列において、たとえば分子間接触を形成するドメインの外部のポリペプチドの部分において作製してもよい。アミノ酸置換はまた、ポリペプチドの活性を改善することができる分子間接触を形成するドメインにおいて作製することができる。保存的アミノ酸置換は、親配列の構造的特徴を実質的に変化させるべきではない；たとえば交換アミノ酸は、親配列において起こる免疫グロブリン結合ドメインを構成する逆平行β-シートを変更すべきではなく、または親配列を特徴付けする他のタイプの二次構造を破壊すべきではない。一般的に、グリシンおよびプロリンは、逆平行β-シートにおいて用いられないであろう。当技術分野において認識されるポリペプチドの二次および三次構造の例は、Proteins, Structures and Molecular Principles (Creighton, Ed., W. H. Freeman and Company, New York (1984))；Introduction to Protein Structure (C. Branden and J. Tooze, eds., Garland Publishing, New York, N. Y. (1991))；およびThornton et al., Nature 354:105 (1991)において記載される。

【０１４９】

本発明のもう一つの局面において、抗体を、たとえばPCT公開番号WO98/52976およびWO00/34317において記載される技術を用いて、その免疫原性を低減させるために脱免疫してもよい。

【０１５０】

もう一つの態様において、もう一つのポリペプチドに連結された、本発明の抗IgE抗体の全てまたは部分を含む融合抗体またはイムノアドヘシンを作製してもよい。好ましい態様において、抗IgE抗体の可変ドメインのみがポリペプチドに連結される。もう一つの好ましい態様において、抗IgE抗体のV_Hドメインは、第一のポリペプチドに連結されるが、抗IgE抗体のV_Lドメインは、V_HおよびV_Lドメインが互いに相互作用して抗原結合部位を形成することができるように、第一のポリペプチドに会合する第二のポリペプチドに連結している。もう一つの好ましい態様において、V_Hドメインは、V_HおよびV_Lドメインが互いに相互作用することができるように、リンカーによってV_Lドメインから離れている（以下の

一本鎖抗体を参照されたい）。次に、V_H-リンカー-V_L抗体を、関心対象ポリペプチドに連結させる。加えて、二つの（またはそれより多い）一本鎖抗体が互いに連結した融合抗体を作製することができる。これは、一つのポリペプチド鎖上に二価もしくは多価抗体を作製したい場合、または二重特異性抗体を作製したい場合に有用である。

【０１５１】

一本鎖抗体（scFv）を作製するために、V_LおよびV_Hドメインが柔軟なリンカーによって連結されて、V_HおよびV_L配列が隣接する一本鎖タンパク質として発現されうるように、V_HおよびV_LコードDNA断片を、柔軟なリンカーをコードする、たとえばアミノ酸配列$(Gly_4\text{-}Ser)_3$をコードするもう一つの断片に機能的に連結させる。たとえば、Bird et al., Science 242:423-426 (1988)；Huston et al., Proc. Natl. Acad. Sci USA 85:5879-5883 (1988)；McCafferty et al., Nature 348:552-554 (1990)を参照されたい。一本鎖抗体は、一つのV_HおよびV_Lのみを用いる場合には一価となる可能性があり、二つのV_HおよびV_Lを用いる場合には二価となる可能性があり、または二つより多いV_HおよびV_Lを用いる場合には多価となる可能性がある。ヒトIgEおよびもう一つの分子に対して特異的に結合する二重特異性または多価抗体を生成してもよい。

【０１５２】

他の態様において、抗IgE抗体コード核酸分子を用いて他の改変抗体を調製してもよい。例として、「カッパボディ」（Ill et al., Protein Eng. 10: 949-57 (1997)）、「ミニボディ」（Martin et al., EMBO J. 13: 5303-9 (1994)）、「ディアボディ」（Holliger et al., Proc. Natl. Acad. Sci USA 90: 6444-6448 (1993)）、または「ヤーヌシン（Janusins）」（Traunecker et al., EMBO J. 10:3655-3659 (1991)およびTraunecker et al., Int. J. Cancer (Suppl.) 7:51-52 (1992)）を、仕様書の教示に従って標準的な分子生物学技術を用いて調製してもよい。

【０１５３】

一定の態様において、本発明の抗体は、中性型（両性イオン型が含まれる）、または陽性もしくは陰性荷電種として存在してもよい。いくつかの態様において、抗体は、対イオンと複合体を形成して、薬学的に許容される塩を形成してもよい。

【０１５４】

「薬学的に許容される塩」という用語は、一つまたは複数の抗体と、一つまたは複数の対イオンとを含む複合体を指し、対イオンは、薬学的に許容される無機および有機酸および塩基に由来する。

【０１５５】

薬学的に許容される無機塩基には、金属イオンが含まれる。より好ましい金属イオンには、適切なアルカリ金属塩、アルカリ土類金属塩、および他の生理的に許容される金属イオンが含まれるがこれらに限定されるわけではない。無機塩基に由来する塩には、アルミニウム、アンモニウム、カルシウム、コバルト、ニッケル、モリブデン、バナジウム、マンガン、クロム、セレン、スズ、銅、第二鉄、第一鉄、リチウム、マグネシウム、第二マンガン塩、第一マンガン塩、カリウム、ルビジウム、ナトリウム、および亜鉛、ならびにその通常の原子価が含まれる。

【０１５６】

本発明の抗体の薬学的に許容される酸付加塩は、以下の酸：ギ酸、酢酸、アセトアミド安息香酸、アジピン酸、アスコルビン酸、ホウ酸、プロピオン酸、安息香酸、樟脳酸、炭酸、シクラミン酸、デヒドロコール酸、マロン酸、エデト酸、エチル硫酸、フェンディゾ（fendizoic）酸、メタリン酸、コハク酸、グリコール酸、グルコン酸、乳酸、リンゴ酸、酒石酸、タンニン酸、クエン酸、硝酸、アスコルビン酸、グルクロン酸、マレイン酸、葉酸、フマル酸、プロピオン酸、ピルビン酸、アスパラギン酸、グルタミン酸、安息香酸、塩酸、臭化水素酸、ヨウ化水素酸、リジン、イソクエン酸、トリフルオロ酢酸、パモ酸、プロピオン酸、アントラニル酸、メシル酸、オロチン酸、シュウ酸、オキサロ酢酸、オレイン酸、ステアリン酸、サリチル酸、アミノサリチル酸、ケイ酸塩、p-ヒドロキシ安息香酸、ニコチン酸、フェニル酢酸、マンデル酸、エンボン酸、スルホン酸、メタンスルホ

ン酸、リン酸、ホスホン酸、エタンスルホン酸、エタンジスルホン酸、アンモニウム、ベンゼンスルホン酸、パントテン酸、ナフタレンスルホン酸、トルエンスルホン酸、2-ヒドロキシエタンスルホン酸、スルファニル酸、硫酸、硝酸、亜硝酸、硫酸モノメチルエステル、シクロヘキシルアミノスルホン酸、β-ヒドロキシ酪酸、グリシン、グリシルグリシン、グルタミン酸、カコジル酸、ジアミノヘキサン酸、樟脳スルホン酸、グルコン酸、チオシアン酸、オキソグルタル酸、ピリドキサル5-リン酸、クロロフェノキシ酢酸、ウンデカン酸、N-アセチル-L-アスパラギン酸、ガラクタル酸、およびガラクツロン酸が含まれるがこれらに限定されるわけではない酸から調製することができる。

【０１５７】

薬学的に許容される有機塩基には、トリメチルアミン、ジエチルアミン、N,N'-ジベンジルエチレンジアミン、クロロプロカイン、コリン、ジベンジルアミン、ジエタノールアミン、エチレンジアミン、メグルミン（N-メチルグルカミン）、プロカイン、環状アミン、四級アンモニウム陽イオン、アルギニン、ベタイン、カフェイン、クレミゾール、2-エチルアミノエタノール、2-ジエチルアミノエタノール、2-ジメチルアミノエタノール、エタンジアミン、ブチルアミン、エタノールアミン、エチレンジアミン、N-エチルモルフォリン、N-エチルピペリジン、エチルグルカミン、グルカミン、グルコサミン、ヒスチジン、ヒドラバミン、イミダゾール、イソプロピルアミン、メチルグルカミン、モルフォリン、ピペラジン、ピリジン、ピリドキシン、ネオジミウム、ピペリジン、ポリアミン樹脂、プロカイン、プリン、テオブロミン、トリエチルアミン、トリプロピルアミン、トリエタノールアミン、トロメタミン、メチルアミン、タウリン、コール酸塩、6-アミノ-2-メチル-2-ヘプタノール、2-アミノ-2-メチル-1,3-プロパンジオール、2-アミノ-2-メチル-1-プロパノール、脂肪族モノおよびジカルボン酸、フェニル置換アルカン酸、ヒドロキシアルカン酸、芳香族酸、脂肪族および芳香族スルホン酸、ストロンチウム、トリシン、ヒドラジン、フェニルシクロヘキシルアミン、2-(N-モルフォリノ)エタンスルホン酸、ビス(2-ヒドロキシエチル)アミノ-トリス(ヒドロキシメチル)メタン、N-(2-アセトアミド)-2-アミノエタンスルホン酸、1,4-ピペラジンジエタンスルホン酸、3-モルフォリノ-2-ヒドロキシプロパンスルホン酸、1,3-ビス[トリス(ヒドロキシメチル)メチルアミノ]プロパン、4-モルフォリンプロパンスルホン酸、4-(2-ヒドロキシエチル)ピペラジン-1-エタンスルホン酸、2-[(2-ヒドロキシ-1,1-ビス(ヒドロキシメチル)エチル)アミノ]エタンスルホン酸、N,N-ビス(2-ヒドロキシエチル)-2-アミノエタンスルホン酸、4-(N-モルフォリノ)ブタンスルホン酸、3-(N,N-ビス[2-ヒドロキシエチル]アミノ)-2-ヒドロキシプロパンスルホン酸、2-ヒドロキシ-3-[トリス(ヒドロキシメチル)メチルアミノ]-1-プロパンスルホン酸、4-(2-ヒドロキシエチル)ピペラジン-1-(2-ヒドロキシプロパンスルホン酸)、ピペラジン-1,4-ビス(2-ヒドロキシプロパンスルホン酸)二水和物、4-(2-ヒドロキシエチル)-1-ピペラジンプロパンスルホン酸、N-N-ビス(2-ヒドロキシエチル)グリシン、N-(2-ヒドロキシエチル)ピペラジン-N'-(4-ブタンスルホン酸)、N-[トリス(ヒドロキシメチル)メチル]-3-アミノプロパンスルホン酸、N-トリス(ヒドロキシメチル)メチル-4-アミノブタンスルホン酸、N-(1,1-ジメチル-2-ヒドロキシエチル)-3-アミノ-2-ヒドロキシプロパンスルホン酸、2-(シクロヘキシルアミノ)エタンスルホン酸、3-(シクロヘキシルアミノ)-2-ヒドロキシ-1-プロパンスルホン酸、3-(シクロヘキシルアミノ)-1-プロパンスルホン酸、N-(2-アセトアミド)イミノ二酢酸、4-(シクロヘキシルアミノ)-1-ブタンスルホン酸、N-[トリス(ヒドロキシメチル)メチル]グリシン、2-アミノ-2-(ヒドロキシメチル)-.1,3-プロパンジオール、およびトロメタモールが含まれる。

【０１５８】

本発明の抗IgE抗体または抗原結合部分は、誘導体化するか、またはもう一つの分子（たとえば、もう一つのペプチドもしくはタンパク質）に連結させることができる。一般的に、抗体またはその部分は、IgE結合、特に遊離のIgEに対する結合が、誘導体化または標識によって有害な影響を受けないように誘導体化される。したがって、本発明の抗体および抗体部分は、本明細書に記載するヒト抗IgE抗体の無傷および改変型の双方が含まれると意図される。たとえば、本発明の抗体または抗体部分は、もう一つの抗体（たとえば、

二重特異性抗体またはディアボディ）、検出物質、薬剤、および／または抗体または抗体部分ともう一つの分子との会合を媒介することができるタンパク質またはペプチド（ストレプトアビジンコア領域またはポリヒスチジンタグなどの）などの一つまたは複数の他の分子実体に機能的に連結させる（化学カップリング、遺伝子融合、非共有結合的会合、またはそれ以外）ことができる。

【０１５９】

誘導体化抗体の一つのタイプは、二つまたはそれより多い抗体（同じタイプまたは異なるタイプ、たとえば二重特異性抗体を作製するために）をクロスリンクすることによって産生される。適したクロスリンク剤には、適切なスペーサー（たとえば、m-マレイミドベンゾイル-N-ヒドロキシスクシニミドエステル）によって離れた二つの別個の反応基を有するヘテロ二官能であるクロスリンク剤、またはホモ二官能である（たとえば、スベリン酸ジスクシニミジル）クロスリンク剤が含まれる。そのようなリンカーは、Pierce Chemical Company, Rockford, Ilから入手可能である。

【０１６０】

抗IgE抗体はまた、ポリエチレングリコール（PEG）、メチルもしくはエチル基、または炭水化物基などの化学基によって誘導体化することができる。これらの基は、抗体の生物学的特徴を改善するために、たとえば血清半減期を増加させるために有用である。

【０１６１】

本発明に従う抗体はまた、標識してもよい。本明細書において用いられるように、「標識」または「標識された」という用語は、抗体にもう一つの分子を組み入れることを指す。一つの態様において、標識は、検出可能なマーカーであり、たとえば放射標識アミノ酸の取り込み、または印をつけたアビジン（たとえば、蛍光マーカーを含有するストレプトアビジン、または光学的もしくは比色法によって検出することができる酵素活性）によって検出することができるビオチニル部分のポリペプチドへの付着である。もう一つの態様において、標識またはマーカーは、治療的、たとえば薬物共役体、または毒素となりうる。ポリペプチドおよび糖タンパク質を標識する様々な方法が当技術分野において公知であり、これらを用いてもよい。ポリペプチドの標識の例には、以下が含まれるがこれらに限定されるわけではない：放射性同位元素または放射性核種（たとえば、^{3}H、^{14}C、^{15}N、^{35}S、^{90}Y、^{99}Tc、^{111}In、^{125}I、^{131}I）、蛍光標識（たとえば、FITC、ローダミン、ランタニドリン光体）、酵素標識（たとえば、西洋ワサビペルオキシダーゼ、β-ガラクトシダーゼ、ルシフェラーゼ、アルカリホスファターゼ）、化学発光マーカー、ビオチニル基、二次レポーター（たとえば、ロイシンジッパー対配列、二次抗体の結合部位、金属結合ドメイン、エピトープタグ）によって認識される既定のポリペプチドエピトープ、ガドリニウムキレート剤などの磁気物質、百日咳毒素などの毒素、タキソール、サイトカラシンB、グラミシジンD、エチジウムブロミド、エメチン、マイトマイシン、エトポシド、テノポシド、ビンクリスチン、ビンブラスチン、コルヒチン、ドキソルビシン、ダウノルビシン、ジヒドロキシアントラシンジオン、ミトキサントロン、ミスラマイシン、アクチノマイシンD、1-デヒドロテストステロン、グルココルチコイド、プロカイン、テトラカイン、リドカイン、プロプラノロール、およびピューロマイシン、ならびにその類似体または相同体。いくつかの態様において、標識は、可能性がある立体妨害を低減するために様々な長さのスペーサーアームによって付着される。

【０１６２】

核酸、ベクター、および細胞

本発明はまた、抗IgE抗体またはその抗原結合断片をコードする核酸分子および配列を包含する。いくつかの態様において、異なる核酸分子が、抗IgE免疫グロブリンの重鎖および軽鎖をコードする。他の態様において、同じ核酸分子が抗IgE免疫グロブリンの重鎖および軽鎖をコードする。

【０１６３】

ヌクレオチド配列に対する言及は、特に明記していなければその相補体を包含する。このように、特定の配列を有する核酸に対する言及は、その相補的配列と共にその相補鎖を

包含すると理解すべきである。本明細書において言及される「ポリヌクレオチド」という用語は、リボヌクレオチド、デオキシヌクレオチド、またはいずれかのタイプのヌクレオチドの改変型のいずれかである、長さが少なくとも10塩基のヌクレオチドのおそらく単離された重合型を意味する。この用語には、一本鎖および二本鎖型が含まれる。

【０１６４】

一つの局面において、本発明は、先に記載したように抗体またはその部分の鎖の一つをコードする核酸配列を提供する。

【０１６５】

一つの局面において、本発明は、SEQ ID NO： 1、3、11、13、21、23、31、33、41、43、51、53、61、63、71、73、81、83、91、93、101、103、105、107、109、111、121、123、131、および133からなる群より選択される核酸配列を提供する。

【０１６６】

本発明の核酸分子には、先に記載したような高ストリンジェント条件でハイブリダイズする、または先に引用した核酸配列の一つもしくは複数に対して、もしくは提供されるV_HもしくはV_L配列のいずれかのアミノ酸配列をコードする核酸配列に対して少なくとも70％、75％、80％、85％、90％、95％、97％、98％、または99％同一である核酸が含まれる。

【０１６７】

一つの態様において、核酸配列は、抗体が以下からなる群より選択される、ヒトIgEに対して向けられる抗体の鎖の一つをコードする：

－SEQ ID NO：4の配列を有するH-可変ドメインと、SEQ ID NO：14の配列を有するL-可変ドメインとを含む抗体；

－SEQ ID NO：24の配列を有するH-可変ドメインと、SEQ ID NO：34の配列を有するL-可変ドメインとを含む抗体；

－SEQ ID NO：44の配列を有するH-可変ドメインと、SEQ ID NO：54の配列を有するL-可変ドメインとを含む抗体；

－SEQ ID NO64の配列を有するH-可変ドメインと、SEQ ID NO：74の配列を有するL-可変ドメインとを含む抗体；

－SEQ ID NO：84の配列を有するH-可変ドメインと、SEQ ID NO：94の配列を有するL-可変ドメインとを含む抗体；および

－SEQ ID NO：124の配列を有するH-可変ドメインと、SEQ ID NO：134の配列を有するL-可変ドメインとを含む抗体。

【０１６８】

一つの局面において、本発明は、ブダペスト条約に従って2006年11月07日にAmerican Type Culture Collection (ATCC), P.O. Box 1549, Manassas, VA 20108, USAに寄託された、ATCC寄託番号PTA-7977のインサートの配列を有する核酸配列と、ATCC寄託番号PTA-7982のインサートによってコードされるL-鎖とを提供する。

【０１６９】

もう一つの局面において、本発明は、ブダペスト条約に従って2006年11月07日にAmerican Type Culture Collection (ATCC), P.O. Box 1549, Manassas, VA 20108, USAに寄託された、ATCC寄託番号PTA-7981のインサートである核酸配列と、ATCC寄託番号PTA-7980のインサートによってコードされるL-鎖とを提供する。

【０１７０】

もう一つの局面において、本発明は、ブダペスト条約に従って2006年11月07日にAmerican Type Culture Collection (ATCC), P.O. Box 1549, Manassas, VA 20108, USAに寄託された、ATCC寄託番号PTA-7985のインサートである核酸配列と、ATCC寄託番号PTA-7984のインサートによってコードされるL-鎖とを提供する。

【０１７１】

もう一つの局面において、本発明は、ブダペスト条約に従って2006年11月07日にAmerican Type Culture Collection (ATCC), P.O. Box 1549, Manassas, VA 20108, USAに寄託された、ATCC寄託番号PTA-7983のインサートの配列を有する核酸配列と、ATCC寄託番号PT

A-7978のインサートによってコードされるL-鎖とを提供する。

【０１７２】

もう一つの局面において、本発明は、ブダペスト条約に従って2006年11月07日にAmerican Type Culture Collection (ATCC), P.O. Box 1549, Manassas, VA 20108, USAに寄託された、ATCC寄託番号PTA-7979のインサートの配列を有する核酸配列と、ATCC寄託番号PTA-7986のインサートによってコードされるL-鎖とを提供する。

【０１７３】

さらなる局面において、本発明は、以下に記載される抗体またはその部分の鎖の一つをコードする核酸配列を含むベクターを提供する。

【０１７４】

核酸配列の状況における「%配列同一性」という用語は、最大に対応するように整列させた場合に同じである二つの配列における残基を意味する。配列同一性比較の長さは、一続きの少なくとも約9ヌクレオチドにわたってもよく、通常少なくとも約18ヌクレオチド、より通常少なくとも約24ヌクレオチド、典型的に少なくとも約28ヌクレオチド、より典型的に少なくとも約32ヌクレオチド、および好ましくは少なくとも約36、48、またはそれより多いヌクレオチドにわたってもよい。ヌクレオチド配列同一性を測定するために用いることができる、当技術分野において公知の多数の異なるアルゴリズムが存在する。たとえば、ポリヌクレオチド配列を、Wisconsin Package Version 10.0, Genetics Computer Group (GCG), Madison, Wisconsinにおけるプログラムであ るFASTA、Gap、またはBestfitを用いて比較することができる。たとえばプログラムFASTA2およびFASTA3が含まれるFASTAは、問い合わせおよび検索配列のあいだの最善のオーバーラップ領域の整列および%配列同一性を提供する（参照により本明細書に組み入れられる、Pearson, Methods Enzymol. 183:63-98 (1990)；Pearson, Methods Mol. Biol. 132:185-219 (2000)；Pearson, Methods Enzymol. 266:227-258 (1996)；Pearson, J. Mol. Biol. 276:71-84 (1998)）。特に明記していなければ、特定のプログラムまたはアルゴリズムのデフォルトパラメータを用いる。例として、核酸配列間の%配列同一性は、参照により本明細書に組み入れられる、FASTAをそのデフォルトパラメータ（ワードサイズ6およびスコア行列に関してNOPAM因子）と共に用いて、またはGapをGCGバージョン6.1において提供されるそのデフォルトパラメータと共に用いて測定することができる。

【０１７５】

さらなる局面において、本発明は、先に記載した抗体またはその部分の鎖の一つを発現させるために適したベクターを提供する。

【０１７６】

本明細書において用いられる「ベクター」という用語は、それに連結されているもう一つの核酸を輸送することができる核酸分子を意味する。いくつかの態様において、ベクターはプラスミド、すなわちその中に追加のDNAセグメントがライゲーションされる可能性があるDNAの環状の二本鎖小片である。いくつかの態様において、ベクターは、追加のDNAセグメントがウイルスゲノムにライゲーションされる可能性があるウイルスベクターである。いくつかの態様において、ベクターは、それらが導入される宿主細胞において自立複製することができる（たとえば、細菌の複製開始点を有する細菌ベクターおよびエピソーム哺乳動物ベクター）。他の態様において、ベクター（たとえば、非エピソーム哺乳動物ベクター）は、宿主細胞への導入時に宿主細胞のゲノムに組み入れられることができ、それによって宿主ゲノムと共に複製される。その上、一定のベクターは、それが機能的に連結されている遺伝子の発現を指示することができる。そのようなベクターは、本明細書において「組換え型発現ベクター」（または単純に「発現ベクター」）と呼ばれる。

【０１７７】

本発明は、本発明の抗IgE抗体またはその抗原結合部分の重鎖をコードする核酸分子を含むベクターを提供する。本発明はまた、そのような抗体またはその抗原結合部分の軽鎖をコードする核酸分子を含むベクターも提供する。本発明はさらに、融合タンパク質、改変抗体、抗体断片、およびそのプローブをコードする核酸分子を含むベクターを提供する

。

【０１７８】

抗IgE抗体またはその部分の重鎖もしくは軽鎖をコードする核酸分子は、そのような抗体を産生する任意の起源から単離することができる。様々な態様において、核酸分子は、ヒトIgE抗原によって免疫した動物から単離された抗IgE抗体を発現するB細胞から、またはそのようなB細胞から産生された不死化細胞から単離される。抗体をコードする核酸を単離する方法は当技術分野において周知である。たとえば、Sambrook J. & Russell D. Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 3rd ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y. (2000)を参照されたい。mRNAを単離して、これを用いてポリメラーゼ連鎖反応（PCR）または抗体遺伝子のcDNAクローニングにおいて用いるためのcDNAを産生してもよい。好ましい態様において、核酸分子は、その融合パートナーの一つとして、非ヒトトランスジェニック動物由来の、ヒト免疫グロブリンを産生する細胞を有するハイブリドーマから単離される。なおより好ましい態様において、ヒト免疫グロブリンを産生する細胞は、XenoMouse（登録商標）動物（以下を参照されたい）から単離される。

【０１７９】

いくつかの態様において、本発明の抗IgE抗体の重鎖をコードする核酸は、任意の起源からの重鎖定常ドメインをコードするヌクレオチド配列にインフレームで接合した本発明のV_Hドメインをコードするヌクレオチド配列を含みうる。同様に、本発明の抗IgE抗体の軽鎖をコードする核酸分子は、任意の起源からの軽鎖定常ドメインをコードするヌクレオチド配列にインフレームで接合した本発明のV_Lドメインをコードするヌクレオチド配列を含みうる。

【０１８０】

本発明のさらなる局面において、重鎖（V_H）および／または軽鎖（V_L）の可変ドメインをコードする核酸分子を、完全長の抗体遺伝子に「変換」してもよい。一つの態様において、V_HまたはV_Lドメインをコードする核酸分子はそれぞれ、V_Hセグメントがベクター内のC_Hセグメントに機能的に連結されて、および／またはV_Lセグメントがベクター内のC_Lセグメントに機能的に連結されるように、重鎖定常（C_H）または軽鎖定常（C_L）ドメインを既にコードする発現ベクターに挿入することによって、完全長の抗体遺伝子に変換される。もう一つの態様において、V_Hおよび／またはV_Lドメインをコードする核酸分子は、V_Hおよび／またはV_Lドメインをコードする核酸分子を、標準的な分子生物学技術を用いて、C_Hおよび／またはC_Lドメインをコードする核酸分子に連結する、たとえばライゲーションすることによって、完全長の抗体遺伝子に変換される。ヒト重鎖および軽鎖免疫グロブリン定常ドメイン遺伝子の核酸配列は、当技術分野において公知である。たとえば、Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed., NIH Publ. No. 91-3242, 1991を参照されたい。次に、完全長の重鎖および／または軽鎖をコードする核酸分子を、それらが導入されている細胞から発現させて、抗IgE抗体を単離してもよい。

【０１８１】

核酸分子を用いて、大量の抗IgE抗体を組換えによって発現させてもよい。核酸分子はまた、以下に詳しく記載されるように、キメラ抗体、二重特異性抗体、一本鎖抗体、イムノアドヘシン、ディアボディ、変異抗体および抗体誘導体を産生するために用いてもよい。

【０１８２】

もう一つの態様において、本発明の核酸分子は、特異的抗体配列のためのプローブまたはPCRプライマーとして用いられる。例として、核酸分子は、診断法におけるプローブとして、またはとりわけ抗IgE抗体の可変ドメインをコードする追加の核酸分子を単離するために用いられうるであろうDNAの領域を増幅するためのPCRプライマーとして用いることができる。いくつかの態様において、核酸分子はオリゴヌクレオチドである。いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、関心対象抗体の重鎖および軽鎖の高度可変ドメインに由来する。いくつかの態様において、オリゴヌクレオチドは、本明細書に記載する本

発明の抗体またはその断片のCDRの一つまたは複数の全てまたは一部をコードする。

【０１８３】

もう一つの態様において、核酸分子およびベクターを用いて、変異した抗IgE抗体を作製してもよい。抗体は、たとえば抗体の結合特性を変更するために、重鎖および／または軽鎖の可変ドメインにおいて変異させてもよい。たとえば、抗IgE抗体のK_Dを増加もしくは減少させるために、K_{off}を増加もしくは減少させるために、または抗体の結合特異性を変更するために、CDR領域の一つまたは複数において変異を作製してもよい。部位特異的変異誘発の技術は、当技術分野において周知である。たとえば、SambrookらおよびAusubelら、前記を参照されたい。もう一つの態様において、本発明のモノクローナル抗体における生殖系列と比較して変化していることが知られているアミノ酸残基で一つまたは複数の変異を作製する。変異は、可変ドメインのCDR領域もしくはフレームワーク領域において、または定常ドメインにおいて作製してもよい。好ましい態様において、変異は可変ドメインにおいて作製される。いくつかの態様において、本発明の抗体またはその断片の可変ドメインのCDR領域またはフレームワーク領域における生殖系列と比較して変化していることが知られているアミノ酸残基で、一つまたは複数の変異が作製される。

【０１８４】

もう一つの態様において、フレームワーク領域は、得られたフレームワーク領域が、対応する生殖系列遺伝子のアミノ酸配列を有するように変異している。変異は、抗IgE抗体の半減期を増加するようにフレームワーク領域または定常ドメインにおいて作製してもよい。たとえば、PCT公開番号WO00/09560を参照されたい。フレームワーク領域または定常ドメインにおける変異はまた、抗体の免疫原性を変更するために、もう一つの分子との共有または非共有結合のための部位を提供するために作製することができる。本発明に従って、一つの抗体は、可変ドメインのCDRもしくはフレームワーク領域の任意の一つもしくは複数において、または定常ドメインにおいて変異を有してもよい。

【０１８５】

いくつかの態様において、本発明の抗IgE抗体またはその抗原結合部分は、先に記載したように得られた、部分的または完全長の軽鎖および重鎖をコードするDNAを、遺伝子が転写および翻訳制御配列などの必要な発現制御配列に機能的に連結するように、発現ベクターの中に挿入することによって発現される。発現ベクターには、プラスミド、レトロウイルス、アデノウイルス、アデノ随伴ウイルス（AAV）、カリフラワーモザイクウイルス、タバコモザイクウイルスなどの植物ウイルス、コスミド、YAC、EBV由来エピソーム等が含まれる。抗体遺伝子は、ベクター内の転写および翻訳制御配列が、抗体遺伝子の転写および翻訳を調節するその意図された機能を供するように、ベクターにライゲーションされる。発現ベクターおよび発現制御配列は、用いる発現宿主細胞と適合性となるように選ばれる。抗体軽鎖および抗体重鎖遺伝子を個別のベクターに挿入することができる。好ましい態様において、双方の遺伝子は同じ発現ベクターに挿入される。抗体遺伝子は、標準的な方法（たとえば、抗体遺伝子断片上の相補的制限部位のライゲーション、または制限部位が存在しない場合には平滑末端ライゲーション）によって発現ベクターに挿入される。

【０１８６】

都合のよいベクターは、任意のV_HまたはV_L配列を先に記載したように容易に挿入および発現することができるように適切な制限部位が工学操作されている、機能的に完全なヒトC_HまたはC_L免疫グロブリン配列をコードするベクターである。そのようなベクターにおいて、スプライシングは通常、挿入されたJ領域におけるスプライスドナー部位と、ヒトCドメインの前に存在するスプライスアクセプター部位のあいだで起こり、同様に、ヒトC_Hエキソン内で起こるスプライス領域でも起こる。ポリアデニル化および転写終止は、コード領域の下流の本来の染色体部位で起こる。組換え型発現ベクターはまた、宿主細胞からの抗体鎖の分泌を容易にするシグナルペプチドをコードすることができる。抗体鎖遺伝子は、シグナルペプチドが免疫グロブリン鎖のアミノ末端にインフレームで連結されるように、ベクターにクローニングされてもよい。シグナルペプチドは、免疫グロブリンシグナルペプチドまたは異種シグナルペプチド（すなわち、非免疫グロブリンタンパク質からのシ

グナルペプチド）となりうる。

【０１８７】

抗体鎖遺伝子のほかに、本発明の組換え型発現ベクターは、宿主細胞における抗体鎖遺伝子の発現を制御する調節配列を保持する。調節配列の選択が含まれる発現ベクターの設計は、形質転換される宿主細胞の選び方、所望のタンパク質の発現レベルなどの要因に依存する可能性があることは当業者によって認識されるであろう。哺乳動物宿主発現のための好ましい調節配列には、レトロウイルスLTR、サイトメガロウイルス（CMV）（CMVプロモーター／エンハンサーなどの）、シミアンウイルス40（SV40）（SV40プロモーター／エンハンサーなどの）、アデノウイルス（たとえば、アデノウイルス主要後期プロモーター（AdMLP））、ポリオーマ、ならびに本来の免疫グロブリンおよびアクチンプロモーターなどの強い哺乳動物プロモーターなど、哺乳動物細胞において高レベルのタンパク質発現を指示するウイルス要素が含まれる。ウイルス調節要素、およびその配列のさらなる記載に関して、たとえば米国特許第5,168,062号、第4,510,245号、および第4,968,615号を参照されたい。プロモーターおよびベクターの説明が含まれる、植物において抗体を発現させるための方法と共に植物の形質転換のための方法は、当技術分野において公知である。たとえばUS 6,517,529を参照されたい。細菌細胞または真菌細胞、たとえば酵母細胞においてポリペプチドを発現させる方法も同様に、当技術分野において周知である。

【０１８８】

抗体鎖遺伝子および調節配列のほかに、本発明の組換え型発現ベクターは、宿主細胞においてベクターの複製を調節する配列（たとえば、複製開始点）および選択マーカー遺伝子などの追加の配列を保持してもよい。選択マーカー遺伝子は、ベクターが導入されている宿主細胞の選択を容易にする（たとえば、米国特許第4,399,216号、第4,634,665号、および第5,179,017号を参照されたい）。たとえば、典型的に選択マーカー遺伝子は、ベクターが導入されている宿主細胞に対して、G418、ヒグロマイシン、またはメソトレキセートなどの薬物に対する耐性を付与する。たとえば、選択マーカー遺伝子には、ジヒドロ葉酸レダクターゼ（DHFR）遺伝子（メソトレキセート選択／増幅を有するdhfr-宿主細胞において用いるため）、neo遺伝子（G418選択のため）、およびグルタメートシンターゼ遺伝子が含まれる。

【０１８９】

本明細書において用いられるように、「発現制御配列」という用語は、それらがライゲーションされるコード配列の発現およびプロセシングに影響を及ぼすために必要であるポリヌクレオチド配列を意味する。発現制御配列には、適切な転写開始、終止、プロモーターおよびエンハンサー配列；スプライシングおよびポリアデニル化シグナルなどの効率的なRNAプロセシングシグナル；細胞質mRNAを安定化させる配列；翻訳効率を増強する配列（すなわち、コザックコンセンサス配列）；タンパク質の安定性を増強する配列；および所望であれば、タンパク質分泌を増強する配列が含まれる。そのような制御配列の性質は、宿主生物に応じて異なる；原核生物では、そのような制御配列には一般的に、プロモーター、リボソーム結合部位、および転写終止配列が含まれ；真核生物では、一般的にそのような制御配列には、プロモーターおよび転写終止配列が含まれる。「制御配列」という用語には、最少でもその存在が発現およびプロセシングにとって必須である全ての成分が含まれると意図され、同様にその存在が有利である追加の成分、たとえばリーダー配列および融合パートナー配列が含まれうる。

【０１９０】

抗体および抗体産生細胞株を産生する方法

いくつかの態様において、ヒト抗体は、そのゲノム内にヒト免疫グロブリン重鎖および軽鎖の遺伝子座のいくつかまたは全てを含む非ヒトトランスジェニック動物をヒトIgE抗原によって免疫することによって産生される。好ましい態様において、非ヒト動物は、XenoMouse（登録商標）動物（Abgenix, Inc. / Amgen, Inc. - Fremont, CA）である。

【０１９１】

XenoMouse（登録商標）マウスは、ヒト免疫グロブリン重鎖および軽鎖の遺伝子座の大

きい断片を含み、マウス抗体産生を欠損する、工学操作されたマウス系統である。たとえば、Green et al., Nature Genetics 7:13-21 (1994)および米国特許第5,916,771号、第5,939,598号、第5,985,615号、第5,998,209号、第6,075,181号、第6,091,001号、第6,114,598号、第6,130,364号、第6,162,963号および第6,150,584号を参照されたい。同様にWO 91/10741、WO 94/02602、WO 96/34096、WO 96/33735、WO 98/16654、WO 98/24893、WO 98/50433、WO 99/45031、WO 99/53049、WO 00/09560、およびWO 00/037504も参照されたい。

【０１９２】

もう一つの局面において、本発明は、ヒト免疫グロブリン座を含む非ヒトトランスジェニック動物を、IgE抗原によって免疫することによって非ヒト非マウス動物から抗IgE抗体を作製する方法を提供する。先に引用した文書において記載される方法を用いて、そのような動物を産生することができる。これらの文書において開示される方法は、US 5,994,619において記載されるように改変することができる。US 5,994,619は、ブタおよびウシに由来する新規培養内細胞塊（CICM）細胞および細胞株、ならびに異種DNAが挿入されているトランスジェニックCICM細胞を産生するための方法を記載している。CICMトランスジェニック細胞を用いて、クローニングされたトランスジェニック胚、胎児、および子孫を産生することができる。US 5,994,619はまた、異種DNAをその子孫に伝搬することができるトランスジェニック動物を産生する方法も記載している。本発明の好ましい態様において、非ヒト動物は、哺乳動物、特にラット、ヒツジ、ブタ、ヤギ、畜牛、ウマ、またはニワトリである。

【０１９３】

XenoMouse（登録商標）マウスは、完全なヒト抗体の成体様ヒトレパートリーを産生して、抗原特異的ヒト抗体を生成する。いくつかの態様において、XenoMouse（登録商標）マウスは、酵母人工染色体（YAC）におけるヒト重鎖の遺伝子座およびカッパ軽鎖の遺伝子座のメガベースの大きさの生殖系列構造断片の導入を通して、ヒト抗体V遺伝子レパートリーのおよそ80％を含有する。他の態様において、XenoMouse（登録商標）マウスはさらに、ヒトラムダ軽鎖の遺伝子座のおよそ全てを含有する。Mendez et al., Nature Genetics 15:146-156 (1997), Green and Jakobovits, J. Exp. Med. 188:483-495 (1998)、およびWO 98/24893を参照されたい。

【０１９４】

いくつかの態様において、ヒト免疫グロブリン遺伝子を含む非ヒト動物は、ヒト免疫グロブリン「ミニ座」を有する動物である。ミニ座アプローチにおいて、外因性のIg座は、Ig座からの個々の遺伝子を含めることを通して模倣される。このように、一つまたは複数のV_H遺伝子、一つまたは複数のD_H遺伝子、一つまたは複数のJ_H遺伝子、ミュー定常ドメイン、および第二の定常ドメイン（好ましくはガンマ定常ドメイン）を、動物に挿入するために構築物へと形成する。このアプローチはとりわけ、米国特許第5,545,807号、第5,545,806号、第5,569,825号、第5,625,126号、第5,633,425号、第5,661,016号、第5,770,429号、第5,789,650号、第5,814,318号、第5,591,669号、第5,612,205号、第5,721,367号、第5,789,215号、および第5,643,763号において記載されている。

【０１９５】

動物の免疫は、当技術分野において公知の任意の方法によって行われうる。たとえば、Harlow and Lane, Antibodies: A Laboratory Manual, New York: Cold Spring Harbor Press, 1990を参照されたい。マウス、ラット、ヒツジ、ヤギ、ブタ、畜牛、およびウマなどの非ヒト動物を免疫するための方法は、当技術分野において周知である。たとえば、Harlow and Lane、前記およびUS 5,994,619を参照されたい。好ましい態様において、免疫応答を刺激するために、ヒトIgE抗原をアジュバントと共に投与する。例示的なアジュバントには、フロイントの完全または不完全アジュバント、RIBI（ムラミルジペプチド）、またはISCOM（免疫刺激複合体）が含まれる。そのようなアジュバントは、ポリペプチドを局所蓄積物中に分離することによって急速な分散からポリペプチドを保護する可能性があり、またはそれらは、宿主を刺激してマクロファージに対して走化性である因子および免疫系の他の成分を分泌させる物質を含有してもよい。好ましくは、ポリペプチドが投与

される場合、免疫スケジュールは、数週間に及ぶ2回またはそれより多いポリペプチドの投与を伴うであろう。実施例2は、XenoMouse（登録商標）マウスにおける抗IgEモノクローナル抗体を産生するための方法を例示する。

【０１９６】

動物をIgE抗原によって免疫後、抗体および／または抗体産生細胞を動物から得ることができる。いくつかの態様において、抗IgE抗体含有血清を、動物を出血させるまたは屠殺することによって動物から得る。血清は、動物から得られたまま用いてもよく、免疫グロブリン分画を血清から得てもよく、または抗IgE抗体を血清から精製してもよい。

【０１９７】

いくつかの態様において、抗体産生細胞株は、免疫動物から単離された細胞から調製される。免疫後、動物を屠殺して、リンパ節および／または脾臓B細胞を、当技術分野において公知の任意の手段によって不死化する。細胞を不死化する方法には、それらに腫瘍遺伝子をトランスフェクトする段階、それらに腫瘍形成ウイルスを感染させる段階、および不死化細胞を選択する条件でそれらを培養する段階、それらを発癌化合物または変異化合物に供する段階、それらを不死化細胞、たとえば骨髄腫細胞と融合させる段階、および腫瘍抑制遺伝子を不活化する段階が含まれるがこれらに限定されるわけではない。たとえば、Harlow and Lane、前記を参照されたい。骨髄腫細胞との融合を用いる場合、骨髄腫細胞は、好ましくは免疫グロブリンポリペプチドを分泌しない（非分泌細胞株）。不死化細胞をIgE、またはその部分を用いてスクリーニングする。好ましい態様において、初回スクリーニングは、酵素免疫測定法（ELISA）、またはラジオイムノアッセイを用いて行われる。ELISAスクリーニングの例は、WO 00/37504において提供される。

【０１９８】

抗IgE抗体産生細胞、たとえばハイブリドーマを選択して、クローニングし、以下にさらに考察されるように、強い生育、高い抗体産生、および望ましい抗体特徴を含む望ましい特徴に関してさらにスクリーニングする。ハイブリドーマは、同系動物において、免疫系を欠損する動物、たとえばヌードマウスにおいてインビボまたはインビトロで細胞培養において拡大させることができる。ハイブリドーマの選択、クローニング、および拡大方法は当業者に周知である。

【０１９９】

好ましい態様において、免疫動物は、ヒト免疫グロブリン遺伝子を発現する非ヒト動物であり、脾臓B細胞を、非ヒト動物と同じ種の骨髄腫細胞株に融合させる。より好ましい態様において、免疫動物は、XenoMouse（登録商標）マウスであり、骨髄腫細胞株は非分泌性のマウス骨髄腫である。なおより好ましい態様において、骨髄腫細胞株は、P3-X63-Ag8.653（American Type Culture Collection）である。以下の実施例を参照されたい。このように、一つの態様において、本発明は、以下の段階を含む、IgEに対して向けられるヒトモノクローナル抗体またはその断片を産生する細胞株を産生するための方法を提供する：（a）本明細書に記載する非ヒトトランスジェニック動物をIgE、IgEの部分、またはIgEを発現する細胞もしくは組織によって免疫する段階；（b）トランスジェニック動物にIgEに対する免疫応答を開始させる段階；（c）トランスジェニック動物から抗体産生細胞を単離する段階；（d）抗体産生細胞を不死化する段階；（e）不死化抗体産生細胞の個々のモノクローナル集団を作製する段階；および（f）IgEに対して向けられる抗体を同定するために不死化抗体産生細胞をスクリーニングする段階。

【０２００】

もう一つの局面において、本発明は、ヒト抗IgE抗体を産生する細胞株を提供する。いくつかの態様において、細胞株はハイブリドーマ細胞株である。いくつかの態様において、ハイブリドーマは、先に記載したようにマウスハイブリドーマである。他の態様において、ハイブリドーマは、ラット、ヒツジ、ブタ、ヤギ、畜牛、またはウマなどの非ヒト、非マウス種において産生される。もう一つの態様において、ハイブリドーマはヒトハイブリドーマである。

【０２０１】

もう一つの態様において、トランスジェニック動物は、IgE抗原によって免疫され、初代培養細胞、たとえば脾臓または末梢血B細胞を、免疫したトランスジェニック動物から単離して、所望の抗原に対して特異的な抗体を産生する個々の細胞を同定する。それぞれの個々の細胞からのポリアデニル化mRNAを単離して、可変ドメイン配列にアニールするセンスプライマー、たとえばヒト重鎖および軽鎖可変ドメイン遺伝子のFR1領域のほとんどまたは全てを認識する縮重プライマー、ならびに定常または連結領域配列にアニールするアンチセンスプライマーを用いて、逆転写酵素ポリメラーゼ連鎖反応（RT-PCR）を行う。次に、重鎖および軽鎖可変ドメインのcDNAをクローニングして、任意の適した宿主細胞、たとえば骨髄腫細胞において、重鎖およびκまたはλ定常ドメインなどのそれぞれの免疫グロブリン定常領域を有するキメラ抗体として発現させる。Babcook, J.S. et al., Proc. Natl. Acad. Sci USA 93:7843-48, 1996を参照されたい。次に、本明細書に記載するように、抗IgE抗体を同定して単離してもよい。

【０２０２】

ファージディスプレイライブラリ

本発明は、ファージ上でヒト抗体のライブラリを合成する段階、ライブラリをIgEまたはその抗体結合部分によってスクリーニングする段階、IgEに結合するファージを単離する段階、およびファージから抗体を得る段階を含む、抗IgE抗体またはその抗原結合部分を産生するための方法を提供する。例として、ファージディスプレイ技術において用いるための抗体のライブラリを調製するための一つの方法は、免疫応答を作製するために、ヒト免疫グロブリン座を含む非ヒト動物をIgEまたはその抗原結合部分によって免疫する段階、免疫動物から抗体産生細胞を抽出する段階、抽出した細胞から本発明の抗体の重鎖および軽鎖をコードするRNAを単離する段階、RNAを逆転写してcDNAを産生する段階、プライマーを用いてcDNAを増幅する段階、および抗体がファージ上で発現されるように、ファージディスプレイベクターにcDNAを挿入する段階を含む。本発明の組換え型抗IgE抗体は、このようにして得られてもよい。

【０２０３】

本発明の組換え型ヒト抗IgE抗体は、組換え型コンビナトリアル抗体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。好ましくは、ライブラリは、B細胞から単離されたmRNAから調製されたヒトV_LおよびV_H cDNAを用いて生成されたscFvファージディスプレイライブラリである。そのようなライブラリを調製およびスクリーニングするための方法は、当技術分野において公知である。ファージディスプレイライブラリを生成するためのキットは市販されている（たとえば、 Pharmacia Recombinant Phage Antibody System、カタログ番号27-9400-01；およびStratagene SurfZAP（商標）ファージディスプレイキット；カタログ番号240612）。同様に、抗体ディスプレイライブラリの生成およびスクリーニングにおいて用いることができる他の方法および試薬も存在する（たとえば、全てが参照により本明細書に組み入れられる、米国特許第5,223,409号；PCT公開番号WO 92/18619、WO 91/17271、WO 92/20791、WO92/15679、WO 93/01288、WO 92/01047、WO 92/09690；Fuchs et al., Bio/Technology 9:1370-1372 (1991)；Hay et al., Hum. Antibod. Hybridomas 3:81-85 (1992)；Huse et al., Science 246:1275-1281 (1989)；McCafferty et al., Nature 348:552-554 (1990)；Griffiths et al., EMBO J. 12:725-734 (1993)；Hawkins et al., J. Mol. Biol. 226:889-896 (1992)；Clackson et al., Nature 352:624-628 (1991)；Gram et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:3576-3580 (1992)；Garrad et al., Bio/Technology 9:1373-1377 (1991)；Hoogenboom et al., Nuc. Acid Res. 19:4133-4137 (1991)；およびBarbas et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88:7978-7982 (1991)を参照されたい）。

【０２０４】

一つの態様において、所望の特徴を有するヒト抗IgE抗体を単離および産生するために、本明細書に記載するヒト抗IgE抗体を最初に用いて、参照により本明細書に組み入れられるPCT公開番号WO 93/06213において記載されるエピトープインプリンティング法を用いて、IgEに対して類似の結合活性を有するヒト重鎖および軽鎖配列を選択する。この方法

において用いられる抗体ライブラリは、好ましくは、全てが参照により本明細書に組み入れられる、PCT公開番号WO 92/01047、McCafferty et al., Nature 348:552-554 (1990)；およびGriffiths et al., EMBO J. 12:725-734 (1993)において記載されるように調製およびスクリーニングされたscFvライブラリである。scFv抗体ライブラリは、好ましくは抗原としてヒトIgEを用いてスクリーニングされる。

【０２０５】

最初のヒトV_LおよびV_Hドメインを選択した後、「混合およびマッチ（mix and match）」実験を行い、最初に選択したV_LおよびV_Hセグメントの異なる対をIgE結合に関してスクリーニングして、好ましいV_L/V_H対の組み合わせを選択する。加えて、抗体の品質をさらに改善するために、好ましいV_L/V_H対のV_LおよびV_Hセグメントを、天然の免疫応答の際の抗体の親和性成熟に関与するインビボ体細胞変異プロセスと類似のプロセスにおいて、好ましくはV_Hおよび／またはV_LのCDR3領域内で、無作為に変異させる。このインビトロ親和性成熟は、V_H CDR3またはV_L CDR3に対してそれぞれ相補的なPCRプライマーを用いて、V_HおよびV_Lドメインを増幅することによって達成でき、それらのプライマーは、得られたPCR産物が、V_Hおよび／またはV_L CDR3領域にランダム変異が導入されているV_HおよびV_Lセグメントをコードするように、一定の位置で四つのヌクレオチド塩基の無作為な混合物によって「スパイク」されている。これらの無作為変異V_HおよびV_Lセグメントを、IgEに対する結合に関して再度スクリーニングすることができる。

【０２０６】

組換え型免疫グロブリンディスプレイライブラリからの本発明の抗IgE抗体のスクリーニングおよび単離後、選択された抗体をコードする核酸をファージパッケージから（たとえば、ファージゲノムから）取り出して、標準的な組換え型DNA技術によって他の発現ベクターにサブクローニングすることができる。所望であれば、以下に記載される本発明の他の抗体型を作製するために、核酸をさらに操作することができる。コンビナトリアルライブラリのスクリーニングによって単離された組換え型ヒト抗体を発現させるために、抗体をコードするDNAを組換え型発現ベクターにクローニングして、先に記載されたように哺乳動物宿主細胞に導入する。

【０２０７】

非ハイブリドーマ宿主細胞およびタンパク質を組換えによって産生する方法

一つの局面において、本発明は、本発明の抗体またはその部分を組換えによって発現させる組換え型宿主細胞を提供する。そのような組換え型宿主細胞においてそのような組換え型発現によって産生される抗体は、本明細書において「組換え型抗体」と呼ばれる。本発明はまた、そのような宿主細胞の子孫細胞、およびそれらによって産生される抗体も提供する。

【０２０８】

本明細書において用いられる「組換え型宿主細胞」（または単純に「宿主細胞」）という用語は、その中に組換え型発現ベクターが導入されている細胞を意味する。「組換え型宿主細胞」および「宿主細胞」は、特定の被験細胞のみならず、そのような細胞の子孫を意味すると理解すべきである。変異または環境の影響のいずれかによりその後の世代において一定の改変が起こる可能性があることから、そのような子孫は実際には親細胞とは同一でない可能性があるが、それでもなお、本明細書において用いられる「宿主細胞」という用語の範囲に含まれる。

【０２０９】

そのような細胞は、先に記載したように本発明に従うベクターを含んでもよい。

【０２１０】

もう一つの局面において、本発明は、先に記載したように抗体またはその部分を作製するための方法を提供する。一つの態様に従って、方法は、先に記載したようにベクターをトランスフェクトされたまたはベクターによって形質転換された細胞を培養する段階、および抗体またはその部分を回収する段階を含む。

【０２１１】

抗IgE抗体をコードする核酸分子およびこれらの核酸分子を含むベクターを、適した哺乳動物、植物、細菌、または酵母宿主細胞のトランスフェクションのために用いることができる。形質転換は、ポリヌクレオチドを宿主細胞に導入するための任意の公知の方法によって行われうる。異種ポリヌクレオチドを哺乳動物細胞に導入するための方法は、当技術分野において周知であり、これには、デキストラン媒介トランスフェクション、リン酸カルシウム沈殿、ポリブレン媒介トランスフェクション、プロトプラスト融合、電気穿孔、リポソームにおけるポリヌクレオチドの封入、および核へのDNAの直接マイクロインジェクションが含まれる。加えて、核酸分子をウイルスベクターによって哺乳動物細胞に導入してもよい。細胞を形質転換する方法は当技術分野において周知である。たとえば、米国特許第4,399,216号、第4,912,040号、第4,740,461号、および第4,959,455号を参照されたい。植物細胞を形質転換する方法は当技術分野において周知であり、これにはたとえばアグロバクテリウム（Agrobacterium）媒介形質転換、微粒子銃形質転換、直接注入、電気穿孔、およびウイルス形質転換が含まれる。細菌および酵母細胞を形質転換する方法も同様に、当技術分野において周知である。

【０２１２】

発現させるための宿主として利用可能な哺乳動物細胞株は、当技術分野において周知であり、これには、 American Type Culture Collection（ATCC）から入手可能な多くの不死化細胞株が含まれる。これらには、とりわけ、チャイニーズハムスター卵巣（CHO）細胞、NS0細胞、SP2細胞、HEK-293T細胞、293 Freestyle細胞（Invitrogen）、NIH-3T3細胞、HeLa細胞、ベビーハムスター腎（BHK）細胞、アフリカミドリザル腎細胞（COS）、ヒト肝細胞癌細胞（たとえば、Hep G2）、A549細胞、および多数の他の細胞株が含まれる。特に好ましい細胞株は、どの細胞株が高い発現レベルを有するかを決定することを通して選択される。用いてもよい他の細胞株は、Sf9またはSf21細胞などの昆虫細胞株である。抗体遺伝子をコードする組換え型発現ベクターを哺乳動物宿主細胞に導入する場合、宿主細胞において抗体を発現させるために、またはより好ましくは宿主細胞が生育する培養培地に抗体を分泌させるために十分な期間、宿主細胞を培養することによって抗体が産生される。抗体は、標準的なタンパク質精製法を用いて培養培地から取り出すことができる。植物宿主細胞には、たとえば、タバコ（Nicotiana）、シロイヌナズナ（Arabidopsis）、アオウキクサ、トウモロコシ、コムギ、ジャガイモ等が含まれる。細菌宿主細胞には、大腸菌（E. coli）およびストレプトミセス（Streptomyces）種が含まれる。酵母宿主細胞には、シゾサッカロミセス・ポンベ（Schizosaccharomyces pombe）、出芽酵母（Saccharomyces cerevisiae）、およびピチア・パストリス（Pichia pastoris）が含まれる。

【０２１３】

さらに、産生細胞株からの本発明の抗体、またはその部分の発現を、多くの公知の技術を用いて増強することができる。たとえば、グルタミンシンテターゼ遺伝子発現系（GS系）は、一定の条件下で発現を増強するための一般的なアプローチである。GS系は、全体的にまたは部分的に欧州特許第0 216 846号、第0 256 055号、第0 323 997号、および第0 338 841号に結びつけて考察されている。

【０２１４】

異なる細胞株によって、またはトランスジェニック動物において発現された抗体は、互いに異なるグリコシル化パターンを有する可能性がある。しかし、本明細書で提供する核酸分子によってコードされるか、または本明細書で提供するアミノ酸配列を含む全ての抗体は、抗体のグリコシル化状態によらずおよびより一般的に翻訳後改変の有無によらず、本発明の一部である。

【０２１５】

トランスジェニック動物および植物

本発明の抗IgE抗体はまた、関心対象の免疫グロブリン重鎖および軽鎖配列に関してトランスジェニックである哺乳動物または植物の生成と、そこから取り出すことが可能な型での抗体の産生とを通して、トランスジェニックにより産生することができる。哺乳動物におけるトランスジェニック産生に結びつけて、抗IgE抗体を、ヤギ、ウシ、または他の

哺乳動物の乳汁中に産生させ、そこから取り出すことができる。たとえば、米国特許第5,827,690号、第5,756,687号、第5,750,172号、および第5,741,957号を参照されたい。いくつかの態様において、ヒト免疫グロブリン座を含む非ヒトトランスジェニック動物は、先に記載したように、ヒトIgEまたはその免疫原性部分によって免疫される。植物において抗体を作製する方法は、たとえば、米国特許第6,046,037号および第5,959,177号において記載される。

【０２１６】

いくつかの態様において、非ヒトトランスジェニック動物または植物は、標準的なトランスジェニック技術によって、本発明の抗IgE抗体をコードする一つまたは複数の核酸分子を動物または植物に導入することによって産生される。Hoganおよび米国特許第6,417,429号、前記を参照されたい。トランスジェニック動物を作製するために用いられるトランスジェニック細胞は、胚幹細胞、体細胞、または受精卵でありうる。トランスジェニック非ヒト生物は、キメラ、非キメラヘテロ接合体、および非キメラホモ接合体でありうる。たとえば、Hogan et al., Manipulating the Mouse Embryo: A Laboratory Manual 2nd ed., Cold Spring Harbor Press (1999)；Jackson et al., Mouse Genetics and Transgenics: A Practical Approach, Oxford University Press (2000)；およびPinkert, Transgenic Animal Technology: A Laboratory Handbook, Academic Press (1999)を参照されたい。いくつかの態様において、トランスジェニック非ヒト動物は、関心対象の重鎖および／または軽鎖をコードするターゲティング構築物による標的化された破壊および交換を有する。好ましい態様において、トランスジェニック動物は、ヒトIgEに特異的に結合する重鎖および軽鎖をコードする核酸分子を含みかつそれを発現する。抗IgE抗体は、任意のトランスジェニック動物において作製されてもよい。好ましい態様において、非ヒト動物は、マウス、ラット、ヒツジ、ブタ、ヤギ、畜牛、またはウマである。非ヒトトランスジェニック動物は、コードされるポリペプチドを、血液、乳汁、尿、唾液、涙、粘液、および他の体液中に発現する。

【０２１７】

喘息および他のIgE媒介障害を処置するための薬学的組成物、方法

一つの局面において、本発明に従う抗体またはその部分は、薬剤として用いるためである。

【０２１８】

もう一つの局面において、本発明に従う抗体またはその部分は、喘息、特にアレルギー性喘息の処置に用いるためである。先に記載したように、喘息およびアレルギー性喘息は当技術分野において十分に定義されている。それらは、典型的に喘鳴、息切れ、胸部圧迫感、および咳などの症状を伴う気道の慢性的な炎症障害である。

【０２１９】

もう一つの局面において、本発明に従う抗体またはその部分は、アレルギー性鼻炎およびピーナッツアレルギーが含まれる食物アレルギーが含まれる他のIgE媒介障害の処置に用いるためである。

【０２２０】

アレルギー性鼻炎は一般的に、空気中の粒子に曝露された後に起こる、主に鼻、洞、および眼における炎症症状が含まれる症状の集合体を伴う。症状には、くしゃみ；鼻の閉塞；鼻水（および時に鼻血）；咳；頭痛；鼻、口、目、喉、皮膚、またはアレルゲンに曝露された任意の領域のかゆみ；臭覚障害（およびこのように香料に対する感受性）；鼻づまり（鼻のうっ血）；結膜炎；涙目；喉の痛み；および喘鳴が含まれる。

【０２２１】

アレルギー性鼻炎は、通年性および／または季節性であってもよい。通年性のアレルギー性鼻炎は、一年を通して持続するアレルギー性鼻炎である。これは典型的に、動物のふけ、室内のカビ胞子、またはハウスダストダニなどのアレルゲンに対する持続的な曝露によって引き起こされる。季節性のアレルギー性鼻炎は、一年の一定の時期に限って起こるアレルギー性鼻炎である。これは一般的に、季節毎に産生される樹木、草、および雑草の

花粉に対するアレルギーによって引き起こされる。

【０２２２】

食物アレルギーは、卵、ピーナッツ、牛乳、または他のいくつかの特異的食物によって誘発される誇大な免疫応答である。いかなる食物もアレルギー反応を引き起こしうるが、少数の食物が主な原因物質である。小児では、最も一般的な食物アレルギーは、卵、ピーナッツ、牛乳、大豆、木の実、コムギ、甲殻類（エビ、カニ、ロブスター、巻き貝、二枚貝）に対するアレルギーである。より年長の小児および成人では、最も一般的な食物アレルギーは、ピーナッツ、木の実、甲殻類、魚である。症状は、主に胃および腸管に限定される場合があるが、食物が消化または吸収された後では、体の多くの部分を伴う可能性がある。症状には：チクチクする喉；アナフィラキシー（死に至りうる重度の全身性アレルギー反応）；腹痛；下痢；悪心；嘔吐；胃けいれん；口、喉、目、皮膚、または任意の領域のかゆみ；発疹；血管浮腫（腫脹、特に眼瞼、顔、唇、および舌の腫脹）；頭がふらふらするまたは失神；鼻のうっ血；鼻水；息切れ；喘鳴；嚥下困難；口腔アレルギー症候群が含まれる。口腔アレルギー症候群は一般的に、唇、舌、および喉のかゆみ、ならびに時に唇の腫脹を含む。

【０２２３】

もう一つの局面において、本発明に従う抗体またはその部分は、結膜炎、アトピー性皮膚炎、アナフィラキシー、接触性皮膚炎、アレルギー性胃腸病、アレルギー性肺アスペルギルス症、アレルギー性紫斑病、湿疹、高IgE（Job's）症候群、アナフィラキシー過敏症、IgE骨髄腫、炎症性腸疾患（たとえば、クローン病、潰瘍性大腸炎、不定性大腸炎、および感染性大腸炎）、蕁麻疹、乾癬などの他のIgE媒介障害の処置に用いるためである。

【０２２４】

一つの局面において、本発明は、先に記載したように抗体またはその部分を含む薬学的組成物を提供する。

【０２２５】

本発明の抗体またはその部分は、単独で、本発明の一つもしくは複数の他の抗体と併用して、または一つもしくは複数の他の薬物と併用して（またはその任意の組み合わせとして）投与してもよい。本発明の薬学的組成物、方法、および使用はまた、以下に詳述するように、他の活性物質と併用（同時投与）する態様を包含する。本明細書において用いられるように、本発明の抗体と一つまたは複数の他の治療物質とを指す場合の「同時投与」「同時投与される」、および「併用して」という用語は、以下を意味し、以下を指し、および以下が含まれると意図され、それぞれの部分は、同じまたは異なる経路のいずれかによって投与されてもよい：

－　そのような成分が、患者に実質的に同時に成分を放出する一つの投与剤形に共に製剤化されている場合の、処置を必要とする患者に対する本発明の1つまたは複数の抗体と治療物質のそのような組み合わせの同時投与、

－　そのような成分が患者によって実質的に同時に投薬される個別の投与剤形に互いに別に製剤化されている場合で、成分が患者に実質的に同時に放出される場合の、処置を必要とする患者に対する本発明の1つまたは複数の抗体と治療物質のそのような組み合わせの実質的に同時の投与、

－　そのような成分が互いの投与のあいだに有意な時間が経過して患者によって連続的に投薬される個別の投与剤形に互いに別個に製剤化されている場合で、成分が患者に実質的に異なる時間で放出される場合の、処置を必要とする患者に対する本発明の1つまたは複数の抗体および治療物質のそのような組み合わせの連続的投与、ならびに

－　そのような成分が、制御された方法で成分を放出する一つの投与剤形に共に製剤化されている場合で、それらが患者に対して同時および／または異なる時期に同時に、連続的に、および／または重なり合うように放出される場合の、処置を必要とする患者に対する本発明の1つまたは複数の抗体および治療物質のそのような組み合わせの連続的投与。

【０２２６】

一つの局面において、本発明の抗体は、喘息の処置のためにもう一つの薬剤／薬物と共

に同時投与または製剤化されてもよい。たとえば、本発明の抗体は、コルチコステロイド（吸入、経口）が含まれるステロイド；気管支拡張剤（長時間作用型のβ-2アゴニスト；短時間作用型のβ-2アゴニスト）；IgEワクチンなどの他の抗IgE物質；ロイコトリエンアンタゴニスト／阻害剤；メチルキサンチン；気道の炎症に関係するインターロイキンに対して向けられる抗体、たとえばIL-4、IL-13、またはTNFに対して向けられるモノクローナル抗体；クロモリンナトリウムなどのクロモリン；メドクロミルナトリウム；抗コリン作動薬およびPDE阻害剤からなる群より選択される一つまたは複数と共に同時投与または同時製剤化されてもよい。

【０２２７】

もう一つの局面において、本発明の抗体は、抗ヒスタミン剤、非ステロイド性抗炎症剤、うっ血除去剤、鎮咳剤、および鎮痛剤の少なくとも一つと併用して投与または製剤化してもよい。

【０２２８】

一般的に、本発明の抗体またはその部分は、一つまたは複数の薬学的に許容される賦形剤に関連して製剤として投与されるために適している。「賦形剤」という用語は、本明細書において、本発明の化合物以外の任意の成分を記載するために用いられる。賦形剤の選び方は、特定の投与様式、溶解度および安定性に及ぼす賦形剤の効果、ならびに投与剤形の性質などの要因に大きい程度に依存するであろう。本明細書において用いられるように、「薬学的に許容される賦形剤」には、生理的に適合性である任意のおよび全ての溶媒、分散媒体、コーティング、抗菌剤および抗真菌剤、等張および吸収遅延剤等が含まれる。薬学的に許容される賦形剤のいくつかの例は、水、生理食塩液、リン酸緩衝生理食塩液、デキストロース、グリセロール、エタノール等と共にその組み合わせである。多くの場合、等張剤、たとえば、糖、マンニトールなどの多価アルコール、ソルビトール、塩化ナトリウムを組成物に含めることが好ましいであろう。薬学的に許容される物質の追加の例は、湿潤剤、または抗体の有効期間または有効性を増強する湿潤もしくは乳化剤、保存剤もしくは緩衝剤などの微量の補助物質である。本発明の薬学的組成物およびその調製法は、当業者に容易に明らかとなるであろう。そのような組成物およびその調製法は、たとえば、Remington's Pharmaceutical Sciences, 19th Edition（Mack Publishing Company, 1995）において見いだされうる。薬学的組成物は、好ましくはGMP条件で製造される。

【０２２９】

本発明の薬学的組成物は、1回の単位用量として、または1回の単位用量の複数として調製、包装、またはバルクで販売されてもよい。本明細書において用いられるように、「単位用量」は、活性成分の既定量を含む薬学的組成物の別個の量である。活性成分の量は一般的に、対象に投与されるであろう活性物質の用量、またはたとえばそのような用量の半分または3分の1などのそのような用量の簡便な分画に等しい。

【０２３０】

当技術分野において容認されるペプチド、タンパク質、または抗体を投与するためのいかなる方法も、本発明の抗体およびその部分のためにふさわしく使用される可能性がある。

【０２３１】

本発明の薬学的組成物は典型的に、非経口投与にとって適している。本明細書において用いられるように、薬学的組成物の「非経口投与」には、対象の組織の物理的裂傷を特徴とする任意の投与経路および組織における裂傷を通しての薬学的組成物の投与が含まれ、このように一般的に血流、筋肉、または内部臓器への直接投与が得られる。このように、非経口投与には、組成物の注射、外科的切開を通しての組成物の適用、組織浸透性の非外科的創傷を通しての組成物の適用等による薬学的組成物の投与が含まれるがこれらに限定されるわけではない。特に、非経口投与には、皮下、腹腔内、筋肉内、胸骨内、静脈内、動脈内、鞘内、脳室内、尿道内、頭蓋内、滑液包内注射または注入、および腎臓透析注入技術が含まれるがこれらに限定されるわけではないと企図される。好ましい態様には、静脈内および皮下経路が含まれる。

【０２３２】
非経口投与にとって適した薬学的組成物の製剤は、典型的に一般的に、滅菌水または滅菌等張生理食塩液などの薬学的に許容される担体と組み合わせて活性成分を含む。そのような製剤は、ボーラス投与または持続的投与にとって適した剤形で調製、包装、または販売されてもよい。注射用製剤は、保存剤を含有するアンプルまたは多用量容器などの単位投与剤形で調製、包装、または販売されてもよい。非経口投与のための製剤には、懸濁剤、液剤、油性または水性媒体における乳剤、パスタ剤等が含まれる。そのような製剤はさらに、懸濁剤、安定化剤、または分散剤が含まれるがこれらに限定されるわけではない一つまたは複数の追加の成分を含んでもよい。非経口投与のための製剤の一つの態様において、活性物質は、溶解された組成物の非経口投与の前に適した媒体（たとえば、滅菌の発熱物質を含まない水）によって溶解される乾燥（すなわち、粉末または顆粒）型で提供される。非経口投与製剤にはまた、塩、炭水化物、および緩衝剤（好ましくはpH 3～9）などの賦形剤を含有してもよい水溶液が含まれるが、いくつかの応用に関して、それらはよりふさわしくは、滅菌の非水溶液として、または滅菌の発熱物質を含まない水などの適した媒体と共に用いられる乾燥型として製剤化されてもよい。例示的な非経口投与剤形には、滅菌水溶液、たとえばプロピレングリコールまたはデキストロース水溶液における溶液または懸濁液が含まれる。そのような投与剤形は、所望であればふさわしくは緩衝作用を有しうる。有用である他の非経口投与可能な製剤には、微結晶型、またはリポソーム調製物において活性成分を含む製剤が含まれる。非経口投与のための製剤は、即時放出および／または改変された放出となるように製剤化されてもよい。放出改変型製剤には、遅延型、持続型、パルス型、制御型、標的型、およびプログラム型放出が含まれる。

【０２３３】
たとえば、一つの局面において、滅菌注射用溶液は、必要量の抗IgE抗体を、適切な溶媒中で、先に列挙した成分の一つまたは組み合わせと共に組み入れた後、必要であれば濾過滅菌することによって調製してもよい。一般的に、分散剤は、基礎分散培地および先に列挙した成分からの必要な他の成分を含有する滅菌媒体に活性化合物を組み入れることによって調製される。滅菌注射液を調製するための滅菌粉末の場合、好ましい調製法は、予め濾過滅菌したその溶液から、活性成分プラス任意の追加の所望の成分の粉末を生じる真空乾燥および凍結乾燥である。溶液の適当な流動性は、たとえばレシチンなどのコーティングを用いることによって、分散剤の場合には必要な粒子径を維持することによって、および界面活性剤を用いることによって、維持することができる。注射用組成物の延長された吸収は、吸収を遅らせる物質、たとえばモノステアリン酸塩およびゼラチンを組成物に含めることによってもたらされうる。

【０２３４】
本発明の例示的な非制限的な薬学的組成物は、約5.0～約6.5の範囲のpHを有し、約1 mg/mL～約200 mg/mLの本発明の抗体、約1 mM～約100 mMのヒスチジン緩衝液、約0.01 mg/mL～約10 mg/mLのポリソルベート80、約100 mM～約400 mMのトレハロース、および約0.01 mM～約1.0 mMのEDTA二ナトリウム二水和物を含む滅菌水溶液としての製剤である。

【０２３５】
本発明の抗体はまた、典型的に、乾燥粉末インヘラーから乾燥粉末の剤形で（単独で、混合物で、またはたとえば適した薬学的に許容される賦形剤と混合した混合成分粒子として）、適した噴射剤を用いてまたは用いずに、加圧容器、ポンプ、スプレー、アトマイザー（好ましくは、細かい霧を生成するために電気流体力学を用いるアトマイザー）、もしくはネブライザーからのエアロゾルスプレーとして、または点鼻液として、鼻腔内にまたは吸入によって投与することができる。

【０２３６】
加圧容器、ポンプ、スプレー、アトマイザー、またはネブライザーは一般的に、たとえば活性物質を分散、可溶化、または放出を延長させるための適した物質、溶媒としての噴射剤を含む本発明の抗体の溶液または懸濁液を含有する。

【０２３７】

乾燥粉末または懸濁液製剤において用いる前に、薬物産物を一般的に、吸入による送達にとって適した大きさ（典型的に5ミクロン未満）まで微粉化する。これは、螺旋状のジェットミル、流動床ジェットミル、ナノ粒子を形成するための表層流体プロセシング、高圧ホモジナイゼーション、または噴霧乾燥などの任意の適切な粉砕法によって達成されてもよい。

【０２３８】

インヘラーまたは吸入器において用いるためのカプセル剤、ブリスターパック、およびカートリッジは、本発明の化合物の粉末ミックス、適した粉末基剤、および性能改変剤を含有するように製剤化されてもよい。

【０２３９】

細かいミストを生成するために、電気流体力学を用いるアトマイザーにおいて用いるための適した溶液製剤は、1回作動あたり本発明の抗体の適した用量を含有してもよく、1回作動容積は、たとえば1μL～100μLまで多様であってもよい。

【０２４０】

メントールおよびレボメントールなどの適した香料、またはサッカリンもしくはサッカリンナトリウムなどの甘味料を、吸入／鼻腔内投与のために意図される本発明の製剤に加えてもよい。

【０２４１】

吸入／鼻腔内投与のための製剤は、即時および／または改変された放出となるように製剤化されてもよい。改変放出型製剤には、遅延型、持続型、パルス型、制御型、標的化、およびプログラム型放出が含まれる。

【０２４２】

乾燥粉末インヘラーおよびエアロゾルの場合、投与単位は、一定量を送達するバルブによって決定される。本発明に従う単位は典型的に、本発明の抗体の一定量または「一吹き」を投与するように手配される。全体的な1日量は、典型的に1回量で投与され、またはより通常、1日を通して分割用量として投与されるであろう。

【０２４３】

本発明の抗体および抗体部分はまた、経口投与経路のために製剤化されてもよい。経口投与は、化合物が消化管に入るように嚥下を伴ってもよく、および／またはそれによって化合物が口から直接血流に入る口腔内（buccal）、口内（lingual）または舌下投与を伴ってもよい。

【０２４４】

経口投与に適した製剤には、錠剤などの固体、半固体および液体システム；多重粒子またはナノ微粒子、液体、または粉末を含有する軟または硬カプセル；ロゼンジ（液体充填型が含まれる）；咀嚼錠；ゲル；急速分散投与剤形；フィルム；小卵；スプレー；および口腔内／粘膜接着パッチが含まれる。

【０２４５】

液体製剤には、懸濁剤、液剤、シロップ剤、およびエリキシル剤が含まれる。そのような製剤は、軟または硬カプセルにおける増量剤として使用されてもよく（たとえば、ゼラチンまたはヒドロキシプロピルメチルセルロースから作製される）、典型的に担体、たとえば水、エタノール、ポリエチレングリコール、プロピレングリコール、メチルセルロース、または適した油と、一つまたは複数の乳化剤および／または懸濁剤を含んでもよい。液体製剤はまた、たとえば小袋からの固体の溶解によって調製されてもよい。

【０２４６】

一つの局面において、薬学的組成物は、アレルギー性喘息が含まれる喘息の処置に用いるためである。

【０２４７】

もう一つの局面において、薬学的組成物は、アレルギー性鼻炎、食物アレルギー（ピーナッツアレルギーなどの）、結膜炎、アトピー性皮膚炎、アナフィラキシー、接触性皮膚炎、アレルギー性胃腸病、アレルギー性肺アスペルギルス症、アレルギー性紫斑病、湿疹

、高IgE（Job's）症候群、アナフィラキシー過敏症、IgE骨髄腫、炎症性腸疾患（たとえば、クローン病、潰瘍性大腸炎、不定性大腸炎および感染性大腸炎）、蕁麻疹、乾癬が含まれる他のIgE媒介障害の処置に用いるためである。

【０２４８】

もう一つの局面において、本発明は、先に記載した抗体またはその部分の治療的有効量を対象に投与する段階を含む、それを必要とする対象における喘息、特にアレルギー性喘息を処置するための方法を提供する。

【０２４９】

もう一つの局面において、本発明は、先に記載した抗体またはその部分の治療的有効量を対象に投与する段階を含む、それを必要とする対象におけるIgE媒介障害を処置するための方法を提供する。

【０２５０】

IgE媒介障害は、アレルギー性鼻炎、食物アレルギー（ピーナッツアレルギーなどの）、結膜炎、アトピー性皮膚炎、アナフィラキシー、接触性皮膚炎、アレルギー性胃腸病、アレルギー性肺アスペルギルス症、アレルギー性紫斑病、湿疹、高IgE（Job's）症候群、アナフィラキシー過敏症、IgE骨髄腫、炎症性腸疾患（たとえば、クローン病、潰瘍性大腸炎、不定性大腸炎および感染性大腸炎）、蕁麻疹、乾癬からなる群より選択されてもよい。

【０２５１】

なおもう一つの局面において、本発明は、寄生虫感染症が上昇したIgEレベルに関連する、それを必要とする対象における寄生虫感染症を処置するための方法を提供する。一つの局面において、方法は、治療の経過において検出不能となるように対象のIgEレベルを低減させるために十分な量の本発明の抗体を対象に投与する段階を含む。

【０２５２】

なおもう一つの局面において、本発明は、喘息、アレルギー性喘息、アレルギー性鼻炎、および食物アレルギーからなる群より選択されるIgE媒介障害を処置するための薬剤の製造における上記の抗体またはその部分の使用を提供する。

【０２５３】

なおもう一つの局面において、本発明は、結膜炎、アトピー性皮膚炎、アナフィラキシー、接触性皮膚炎、アレルギー性胃腸病、アレルギー性肺アスペルギルス症、アレルギー性紫斑病、湿疹、高IgE（Job's）症候群、アナフィラキシー過敏症、IgE骨髄腫、炎症性腸疾患（たとえば、クローン病、潰瘍性大腸炎、不定性大腸炎および感染性大腸炎）、蕁麻疹、乾癬からなる群より選択されるIgE媒介障害を処置するための薬剤の製造における上記の抗体またはその部分の使用を提供する。

【０２５４】

「処置する」、「処置している」、および「処置」は、生物学的障害および／またはその付随する症状の少なくとも一つを緩和または抑止する方法を指す。本明細書において用いられるように、疾患、障害、または状態を「緩和する」ことは、疾患、障害、または状態の症状の重症度および／または発生頻度を低減させることを意味する。さらに、本明細書において「処置」という言及には、治癒的、待機的、および予防的処置に対する言及が含まれる。

【０２５５】

一つの局面において、対象は哺乳動物、好ましくはヒト対象である。対象は任意の年齢の男性または女性であってもよい。

【０２５６】

「治療的有効量」は、処置される障害の症状の一つまたは複数をある程度軽減するであろう、投与される治療物質の量を指す。喘息の処置を参照して、治療的有効量は、以下の症状の少なくとも一つを軽減する量を指す：息切れ、胸部圧迫感、喘鳴、咳。

【０２５７】

最適な所望の応答を提供するように、投与養生法を調節してもよい。たとえば1回ボー

ラスを投与してもよく、数回の分割用量を経時的に投与してもよく、または治療状況の緊急性によって示されるように、用量を比例的に低減もしくは増加させてもよい。投与の容易さおよび用量の均一性のために非経口組成物を単位投与剤形に製剤化することは特に都合がよい。本明細書において用いられるように単位用量剤形は、処置される患者／対象にとって単位用量として適した物理的に別個の単位を指す；それぞれの単位は、必要な薬学的担体に関連して所望の治療効果を生じるように計算された活性化合物の既定量を含有する。本発明の単位投与剤形の仕様は一般的に、（a）化学療法剤の独自の特徴および達成される特定の治療的または予防的効果、ならびに（b）個体における感受性の処置のためにそのような活性化合物を化合する当技術分野における固有の制限によって左右され、直接依存する。

【０２５８】

このように、当業者は、本明細書において提供された開示に基づいて、用量および投与養生法が、治療の技術分野において周知の方法に従って調節されることを認識するであろう。すなわち、最大認容量を容易に確立することができ、患者に対して検出可能な治療利益を提供する有効量も同様に、患者に対して検出可能な治療利益を提供するためにそれぞれの物質を投与するための一時的な必要条件と同様に、決定されてもよい。したがって、一定の用量および投与養生法が本明細書において例示されるが、これらの例は、本発明の実践において患者に提供される可能性がある用量および投与養生法を決して制限しない。

【０２５９】

用量の値は、緩和される状態のタイプおよび重症度によって多様となる可能性があり、これには1回用量または多数回用量が含まれる可能性があることに注意すべきである。任意の特定の対象に関して、特異的投与養生法を、個体の必要性および組成物を投与するまたは投与を管轄する人の専門的判断に従って、経時的に調節すべきであること、ならびに本明細書において述べた用量範囲は例示的に過ぎず、特許請求する組成物の範囲または実践を制限すると意図されないとさらに理解すべきである。さらに、本発明の組成物による投与養生法は、疾患のタイプ、患者の年齢、体重、性別、医学状態、状態の重症度、投与経路、および使用される特定の抗体が含まれる多様な要因に基づく可能性がある。このように、投与養生法は、広く多様となりうるが、標準的な方法を用いてルーチンで決定することができる。たとえば、用量を、毒性効果および／または検査値などの臨床効果が含まれてもよい薬物動態または薬力学パラメータに基づいて調節してもよい。このように、本発明は、当業者によって決定されるように患者内の用量上昇を包含する。適切な用量および養生法を決定することは、関連技術分野において周知であり、本明細書において開示される教示が提供されれば当業者によって包含されると理解されるであろう。

【０２６０】

ヒト対象に投与する場合、本発明の抗体または抗体部分の1ヶ月の総用量は、当然のこととして投与様式に応じて、典型的に0.5～1200 mg/患者の範囲である。たとえば、1ヶ月の静脈内の用量は約1～1000 mg/患者を必要とする可能性がある。1ヶ月の総用量を、1回量または分割用量で投与してもよく、医師の裁量により、本明細書において提供された典型的な範囲の外側であってもよい。

【０２６１】

本発明の抗体または抗体部分の治療的または予防的有効量の例示的な非制限的な範囲は、1～1000 mg/患者/月である。一つの態様において、本発明の抗体またはその部分は、約1～200または1～150 mg/患者/月で投与されてもよい。

【０２６２】

本発明をよりよく理解するために、以下の実施例を述べる。これらの実施例は、説明する目的に限られ、本発明の範囲をいかなるようにも制限すると解釈してはならない。

【０２６３】

本明細書を通して引用された全ての出版物、特許、および特許出願は、参照により本明細書に組み入れられる。前述の本発明は、理解を明快にする目的で説明および例によっていくぶん詳細に記載してきたが、一定の変化および改変を本発明に行ってもよく、それら

も添付の特許請求の範囲の趣旨または範囲に含まれることは、本発明の教示に照らして当業者に容易に明らかとなるであろう。

【０２６４】

実施例1：免疫原

以下の配列は、融合体6（6.605.1が含まれる、その数字が6で始まるクローンを生じる）に関する免疫原として用いられるヒトIgEからのイプシロン重鎖C2-C4ドメインである。

PTVKILQSSCDGGGHFPPTIQLLCLVSGYTPGTINITWLEDGQVMDVDLSTASTTQEGELASTQSELTLSQ
KHWLSDRTYTCQVTYQGHTFEDSTKKCADSNPRGVSAYLSRPSPFDLFIRKSPTITCLVVDLAPSKGTVN
LTWSRASGKPVNHSTRKEEKQRNGTLTVTSTLPVGTRDWIEGETYQCRVTHPHLPRALMRSTTKTSGPR
AAPEVYAFATPEWPGSRDKRTLACLIQNFMPEDISVQWLHNEVQLPDARHSTTQPRKTKGSGFFVFSRL
EVTRAEWEQKDEFICRAVHEAASPSQTVQRAVSVNPGK

【０２６５】

以下のC3-C4配列は、融合体5（5.396.1および5.948.1が含まれる、その数字が5で始まるクローンを生じる）に関する免疫原として用いられるヒトIgEからのイプシロン重鎖C3-C4ドメインの予測配列である。

CADSNPRGVSAYLSRPSPFDLFIRKSPTITCLVVDLAPSKGTVNLTWSRASGKPVNHSTRKEEKQRNGTL
TVTSTLPVGTRDWIEGETYQCRVTHPHLPRALMRSTTKTSGPRAAPEVYAFATPEWPGSRDKRTLACLI
QNFMPEDISVQWLHNEVQLPDARHSTTQPRKTKGSGFFVFSRLEVTRAEWEQKDEFICRAVHEAASPS
QTVQRAVSVNPGK

【０２６６】

実施例2：免疫およびハイブリドーマの生成

8～10週齢のXenoMouse（登録商標）マウスを、その後肢足裏において抗原10μg/マウスによって免疫した。この用量を、3～5週間のあいだに6～8回繰り返した。融合の3または4日前に、マウスに免疫原のPBS溶液の最終注射を与えた。免疫マウスからの脾臓およびリンパ節リンパ球を、電気的細胞融合によって、非分泌性の骨髄腫P3-X63-Ag8.653細胞株（ATCCカタログ番号CRL 1580）と融合させて、これらの融合細胞を、既に記載されているようにHA-DMEM選択に供した（DMEM、15％FBS、1％200 mM L-グルタミン、1％100×非必須アミノ酸、1％100×Pen/Strep、10 U/ml IL-6、1バイアル/L OPI培地添加物、プラス0.5×HA（アザセリン-ヒポキサンチン、Sigma、カタログ番号A9666））。IgE特異的ヒトIgG2抗体を全て分泌するハイブリドーマのパネルを取り出した。

【０２６７】

ELISAアッセイを用いて、抗体結合を検出した。免疫原を96ウェルImmulonマイクロタイタープレート（NUNC-Immuno（商標）プレートMaxiSorp（商標）表面、Nalge Nunc International、カタログ番号439454）に、50 mM重炭酸ナトリウム緩衝液において4μg/mlで4℃で終夜コーティングした。プレートを洗浄した後、0.1％Tween-20および0.5％ウシ血清アルブミンを加えたPBSによってブロックした。ブロックしたELISAプレートに抗体を加えて、1時間インキュベートし、Tween-20を有するPBSによって洗浄した。結合は、抗ヒトIgG西洋ワサビペルオキシダーゼ（Pierce、カタログ番号31420）の後に、ABTS（Pierce、カタログ番号37615）を加えることによって検出した。比色測定は、マイクロプレートリーダー（SpectraMax Plus 384, Molecular Devices）において405 nmで行った。

【０２６８】

さらなる試験のために選択したハイブリドーマを、限界希釈によって単細胞クローニングした。

【０２６９】

実施例3：本発明の抗IgE抗体の配列

完全長の抗IgE抗体をクローニングして、ハイブリドーマからの配列を以下のように確認した。ポリ$(A)^+$ mRNAをRNeasy Mini Kit（Qiagen、カタログ番号74104）を用いて単離して、RT-PCRのためのSuperScript III第一鎖合成システム（Invitrogen、カタログ番号1

8080051）によって、オリゴ(dT)プライミングを用いてmRNAからcDNAを合成した。クローン5.396.1、6.605.1、および5.948.1に関してオリゴ（dT）プライミングしたcDNAをそれぞれ、表1、2、および3において記載した遺伝子特異的プライマーを用いて増幅した。増幅は、Taq DNAポリメラーゼ（Roche、カタログ番号1146173）、およびPTC-200 DNAエンジン（MJ Research）を用いて以下のサイクリングで達成した：重鎖に関して94℃で2分；5回（94℃で30秒、50℃で30秒、68℃で2分30秒）；25回（94℃で30秒、68℃で30秒、68℃で2分30秒）；68℃で5分、軽鎖に関して、94℃で2分；5回（94℃で30秒、50℃で30秒、68℃で1分30秒）；25回（94℃で30秒、68℃で30秒、68℃で1分30秒）；68℃で5分。PCRアンプリコンをpCR2.1 TOPO（Invitrogen、カタログ番号450641）にクローニングして、標準的なプロトコールを用いてDH5α化学コンピテント細胞（Invitrogen、カタログ番号18258012）に形質転換した。Grills 16th BDTv3.1/dGTP化学（Applied Biosystems Inc）および3730xl DNAアナライザ（Applied Biosystems Inc）を用いてクローンの配列を確認した。配列は全て、「V BASE配列ディレクトリ」（Tomlinson, et al, J. Mol. Biol., 227, 776-798 (1992)；Hum. Mol. Genet., 3, 853-860 (1994)；EMBO J., 14, 4628-4638 (1995)）と整列させることによって分析した。分子の生殖系列遺伝子セグメントの使用を表4において記載する。

【０２７０】

（表１）5.396.1に関するプライマー（5'から3'）

4-34	CCTTTCTCTCCACAGGCGCGCACTCCCAGGTGCAGCTACAGCAGTGG
G_3UTR_R	TACGTGCCAAGCATCCTCGC
K_O12	CTTTCTCTCCACAGGCGTGCACTCCGACATCCAGATGACCCAGTCTCC
K_3UTR_R	AGGCTGGAACTGAGGAGCAGGTG

【０２７１】

（表２）6.605.1に関するプライマー（5'から3'）

oQVHLVQS_Vh5'-620	CCTTTCTCTCCACAGGCGCGCACTCCCAGGTTCACCTGGTGCAGTCT
G_3UTR_R	TACGTGCCAAGCATCCTCGC
o106-2A10-VL5'-384	CTTTCTCTCCACAGGCGTGCACTCCGACATCCAGATGACCCAGTCT
K_3UTR_R	AGGCTGGAACTGAGGAGCAGGTG

【０２７２】

（表３）5.948.1に関するプライマー（5'から3'）

oS255E7a5b1Vh5'-288	CCTTTCTCTCCACAGGCGCGCACTCCCAGGTGCAGCTGGTGCAGTCT
G_3UTR_R	TACGTGCCAAGCATCCTCGC
K_A19	CTTTCTCTCCACAGGCGTGCACTCCGATATTGTGATGACTCAGTCTCCAC
K_3UTR_R	AGGCTGGAACTGAGGAGCAGGTG

【０２７３】

ハイブリドーマによって産生された抗IgE抗体の完全長の配列は以下のとおりである（可変ドメインを大文字で、CDR領域を下線で示す）。

【０２７４】

（表４）ハイブリドーマによって産生された本発明の抗IgE抗体の配列

			ハイブリドーマからのmAb		
配列識別子 SEQ ID NOs			5.396.1	6.605.1	5.948.1
重鎖	完全長	DNA	101	105	109
		タンパク質	102	106	110
軽鎖	完全長	DNA	103	107	111
		タンパク質	104	108	112

【０２７５】
以下の表5は、ハイブリドーマから単離された本発明に従う抗IgE抗体の生殖系列遺伝子セグメントの使用およびアイソタイプを表す。
【０２７６】
（表５）ハイブリドーマから単離された抗IgE抗体の生殖系列の遺伝子セグメントの使用およびアイソタイプ

クローン	重鎖			軽鎖		アイソタイプ
	V_H	D	J_H	V_K	J_K	
5.396.1	4-34	1-1	JH6b	L1	JK3	IgG2
6.605.1	1-18	3-22	JH4b	O12	JK1	IgG2
5.948.1	1-08	3-22	JH6b	A3	JK4	IgG2

【０２７７】
以下の配列は、生殖系列の配列と発現された配列の整列を示す（同一の残基をダッシュで示し、欠失／挿入はハシュマーク#で示し、変異を記載し、およびCDRを下線で示す）。
【０２７８】
本発明の抗体は、都合よくは完全にヒトである。これは、（ヒト化）マウス抗体と比較して、ヒトでの使用に関する安全性を増加させるはずである。

5.396.1

V_H

```
生殖系列    QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLEWIGEINHSGSTNYNPSLKS
5.396.1     ----------------------------------------------------H----------

生殖系列    RVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARDNWND##YYYYGMDVWGQGTTVTVSS
5.396.1     ----------------------------------SF------------------
```

V_K

```
生殖系列    DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISNYLAWFQQKPGKAPKSLIYAASSLQS
5.396.1     ------------------------------H------------------------

生殖系列    GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYNSYPFTFGPGTKVDIK
5.396.1     ----K-----------------------------RH-------------
```

6.605.1

V_H

```
生殖系列    QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYGISWVRQAPGQGLEWMGWISAYNGNTNYAQKLQG
6.605.1     --H---------M-----------------------------------------------------

生殖系列    RVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARYYYDSSGYYYYFDYWGQGTLVTVSS
6.605.1     -I-------------D----------------####DGD--DP--------------
```

V_K

```
生殖系列    DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQS
6.605.1     ------------------------T-----NW-----------------G--T-K-

生殖系列    GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPWTFGQGTKVEIK
6.605.1     ---------E---------------------------P-----------
```

5.948.1

V_H

```
生殖系列    QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYDINWVRQATGQGLEWMGWMNPNSGNTGYAQKFQG
5.948.1     ----------------------------------------------------D--------------

生殖系列    RVTMTRNTSISTAYMELSSLRSEDTAVYYCAR##YDS###YYYYGMDVWGQGTTVTVSS
5.948.1     --------------------------------GH---DGY-SFS---------------
```

V_K

```
生殖系列    DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLLHSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRAS
5.948.1     ------------------------------R----------------------------

生殖系列    GVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTP##TFGGGTKVEIK
5.948.1     ------------------------------------PA-----------
```

【０２７９】

実施例4：本発明の抗IgE抗体からの可変ドメインのクローニング

抗IgE抗体可変ドメインを、以下のように発現ベクターにクローニングした：ポリ(A)$^+$ mRNAを、RNeasy Mini Kit（Qiagen、カタログ番号74104）を用いて単離して、RT-PCRのためのSuperScript III第一鎖合成システム（Invitrogen、カタログ番号18080051）によって、オリゴ(dT)プライミングを用いてmRNAからcDNAを合成した。表6、7および8において

記載したプライマーを用いて、オリゴ（dT）プライミングしたcDNAから、可変ドメインを増幅した。増幅は、Taq DNAポリメラーゼ（Roche、カタログ番号1-146-173）、およびPTC-200 DNAエンジン（MJ Research）を用いて以下のサイクリングで達成した：94℃で2分；5回（94℃で30秒、50℃で30秒、68℃で30秒）；25回（94℃で30秒、68℃で30秒、68℃で30秒）；68℃で5分。次に、可変ドメインをCMVプロモーター、適切なアイソタイプの定常ドメイン、および転写ターミネーター／ポリAシグナルを含有する哺乳動物発現ベクターにクローニングした。Grills 16th BDTv3.1/dGTP化学（Applied Biosystems Inc）および3730xl DNAアナライザ（Applied Biosystems Inc）を用いて、これらのクローンの配列を確認した。

【０２８０】

（表６）5.396.1に関する可変ドメインプライマー（5'から3'）

4-34	CCTTTCTCTCCACAGGCGCGCACTCCCAGGTGCAGCTACAGCAGTGG
o009C6Vh3'-298	ACTCACCTGAGGAGACGGTGACCGTGGTCCC
o106-2A10-VL5'-384	CTTTCTCTCCACAGGCGTGCACTCCGACATCCAGATGACCCAGTCT
o1.257.1VL3'-525	CCTATTCCTTAATTAAGTTATTCTACTCACGTTTGATATCCACTTTGGTCCCAGGGCC

【０２８１】

（表７）6.605.1に関する可変ドメインプライマー（5'から3'）

oQVHLVQS_Vh5'-620	CCTTTCTCTCCACAGGCGCGCACTCCCAGGTTCACCTGGTGCAGTCT
o106-5A6Vh3'-410	ACTCACCTGAGGAGACGGTGACCAGGGTTCC
o106-2A10-VL5'-384	CTTTCTCTCCACAGGCGTGCACTCCGACATCCAGATGACCCAGTCT
omyo-VL3'-513	CCTATTCCTTAATTAAGTTATTCTACTCACGTTTGATTTCCACCTTGGTCCCTTGGCC

【０２８２】

（表８）5.948.1に関する可変ドメインプライマー（5'から3'）

oS255E7Vh5'-288	CCTTTCTCTCCACAGGCGCGCACTCCCAGGTGCAGCTGGTGCAGTCT
GJH6	ACTCACCTGAGGAGACGGTGACCGTGGT
K_A19	CTTTCTCTCCACAGGCGTGCACTCCGATATTGTGATGACTCAGTCTCCAC
JK4_R	TATATTCCTTAATTAAGTTATTCTACTCACGTTTGATCTCCACCTTGGTCCCT

【０２８３】

得られたクローンの配列を再度確認した。本発明の対応する組換え型抗IgE抗体の完全長の配列（リーダー配列を省略する）は、表9において表されるとおりである。

【０２８４】

（表９）本発明の組換え型抗IgE抗体の配列

			組換え型Ab		
配列識別子 SEQ ID NO			5.396.1	6.605.1	5.948.1
重鎖	完全長	DNA	1	41	81
		タンパク質	2	42	82
	可変ドメイン	DNA	3	43	83
		タンパク質	4	44	84
	CDR1	DNA	5	45	85
		タンパク質	6	46	86
	CDR2	DNA	7	47	87
		タンパク質	8	48	88
	CDR3	DNA	9	49	89
		タンパク質	10	50	90
軽鎖	完全長	DNA	11	51	91
		タンパク質	12	52	92
	可変ドメイン	DNA	13	53	93
		タンパク質	14	54	94
	CDR1	DNA	15	55	95
		タンパク質	16	56	96
	CDR2	DNA	17	57	97
		タンパク質	18	58	98
	CDR3	DNA	19	59	99
		タンパク質	20	60	100

【０２８５】

シークエンシングによって、ハイブリドーマに由来する抗体の配列と6.605.1に関する組換え型Abの配列とのあいだに差があることが明らかとなった。しかし、そのような差は、定常ドメインにおける対立遺伝子の差であり、全ての変化はサイレントの3番目のヌクレオチド変化である。

【０２８６】

実施例5：変異誘発－本発明に従うさらなる抗IgE抗体

5.396.1および6.605.1抗IgE抗体の変異誘発を以下のように行った。

【０２８７】

クローン5.396.1のV_H（S103N）におけるPCRによる変異誘発を表10および表6において記載されるプライマーによって行った。増幅は、Taq DNAポリメラーゼ（Roche、カタログ番号1-146-173）、およびPTC-200 DNAエンジン（MJ Research）を用いて以下のサイクリングで達成した：94℃で2分；5回（94℃で30秒、50℃で30秒、68℃で30秒）；25回（94℃で30秒、68℃で30秒、68℃で30秒）；68℃で5分。

【０２８８】

クローン5.396.1のV_K（K61R）におけるPCRによる変異誘発を、表10および表6において記載されるプライマーによって2段階プロセスを用いて行った。段階1は、プライマーセットo106-2A10-VL5'-384/o5936L(KtoR)3'-647を用いる増幅およびプライマーセットo5936L(KtoR)5'-646/o1.257.1VL3'-525を用いる増幅によって、Taq DNAポリメラーゼ（Roche）およびPTC-200 DNAエンジン（MJ Research）を用いて、以下のサイクリングで、変異した重なり合う可変ドメイン断片を作製する段階を伴った：94℃で2分；5回（94℃で30秒、50℃で30秒、68℃で30秒）；25回（94℃で30秒、68℃で30秒、68℃で30秒）；68℃で5分。段階2は、段階1からの増幅された断片を組み合わせることによって、プライマーセットo106-2A10-VL5'-384/o1.257.1VL3'-525、Taq DNAポリメラーゼ（Roche）、およびPTC-200 DNAエンジン（MJ Research）を用いて以下のサイクリングで、完全に変異した可変ドメインの増幅を伴った：94℃で2分；5回（94℃で30秒、50℃で30秒、68℃で30秒）；25回（94℃で30秒、68℃で30秒、68℃で30秒）；68℃で5分。

【０２８９】
クローン6.605.1のV_H（H3Q,M13K,D82E）におけるPCRによる変異誘発を、表10および表7において記載されるプライマーによって2段階プロセスを用いて行った。段階1は、プライマーセットoIgE6605Vh_M13K-621/oIgE6605H(D82E)3'-625を用いる増幅、およびプライマーセットoIgE6605H(D82E)5'-624/o106-5A6Vh3'-410を用いる増幅によって、ならびに上記の増幅条件を用いて、変異した重なり合う可変ドメイン断片を作製する段階を伴った。段階2は、段階1からの増幅された断片を組み合わせることによって、プライマーセットoB8-D8-D1hGH-Vh5'-289/o106-5A6Vh3'-410を用いて、および先の増幅条件を用いて、完全に変異した可変ドメインの増幅を伴った。
【０２９０】
クローン6.605.1のV_K（T25A,T53S）におけるPCRによる変異誘発を、表10および表7において記載されるプライマーによって4段階プロセスを用いて行った。段階1は、プライマーセットo106-2A10-VL5'-384/oIgE6605Vk-T25A3'-627を用いる増幅およびプライマーセットoIgE6605Vk-T25A5'-626/omyo-VL3'-513を用いる増幅によって、ならびに先の増幅条件を用いて、変異した重なり合う可変ドメイン断片を作製する段階を伴った。段階2は、段階1からの増幅した断片を組み合わせることによって、プライマーセットo106-2A10-VL5'-384/omyo-VL3'-513を用いて、および先の増幅条件を用いて、完全に変異した可変ドメインの増幅を伴った。段階3は、段階2からのV_K（T25A）可変ドメインを用いて、プライマーセットo106-2A10-VL5'-384/oIgE6605L(T53K)3'-637を用いる増幅およびプライマーセットoIgE6605L(T53K)5'-636/omyo-VL3'-513を用いる増幅によって、ならびに先の増幅条件を用いて、変異した重なり合う可変ドメインを作製する段階を伴った。段階4は、段階3からの増幅した断片を組み合わせることによって、プライマーセットo106-2A10-VL5'-384/omyo-VL3'-513を用いて、および先の増幅条件を用いて、完全に変異した可変ドメインの増幅を伴った。変異した変種は全て、配列を確認して、先に説明した哺乳動物発現ベクターにクローニングした。
【０２９１】
（表１０）5.396.1および6.605.1に関する変異誘発プライマー（5'から3'）

o5936HS103N-675	ACTCACCTGAGGAGACGGTGACCGTGGTCCCTTGGCCCCAGACGTCCATACCGTAGTAGTAGTAGAAGTTGTCGTTCCAGTTGTCTCTCGCACAGTA
o5936L(KtoR)5'-646	TTGCAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTCAGCGGCAGTGGATCTGGG
o5936L(KtoR)3'-647	CCCAGATCCACTGCCGCTGAACCTTGATGGGACCCCACTTTGCAA
olgE6605Vh_M13K-621	CCTTTCTCTCCACAGGCGCGCACTCCCAGGTTCACCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGTC
olgE6605Vh_M13K-621	CCTTTCTCTCCACAGGCGCGCACTCCCAGGTTCACCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGTC
olgE6605H(D82E)5'-624	GACACATCCACGAGCACAGCCTACATGGAACTGAGGAGCCTGAGATCTGACGAC
olgE6605H(D82E)3'-625	GTCGTCAGATCTCAGGCTCCTCAGTTCCATGTAGGCTGTGCTCGTGGATGTGTC
oB8-D8-D1hGH-Vh5'-289	CCTTTCTCTCCACAGGCGCGCACTCCCAGGTCCAGCTGGTGCAGTCT
olgE6605Vk-T25A5'-626	GGAGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCAAGTCAGAGTATTAGCAACTGGTTA
olgE6605Vk-T25A3'-627	TAACCAGTTGCTAATACTCTGACTTGCCCGGCAAGTGATGGTGACTCTGTCTCC
olgE6605L(T53K)5'-636	AAACTCCTGATCTATGGTGCCTCCAGTTTGAAAAGTGGGGTCCCATCAAGG
olgE6605L(T53K)3'-637	CCTTGATGGGACCCCACTTTTCAAACTGGAGGCACCATAGATCAGGAGTTT

【０２９２】

5.948.1抗IgE抗体の変異誘発は、部位特異的変異誘発における任意の周知の技術によって行われてもよい。

【０２９３】

得られた本発明の抗IgE抗体の配列（リーダー配列を省略する）は、以下の表11に概要するとおりである。

【０２９４】

（表１１）本発明の抗IgE抗体の配列

			組換え型Ab		
配列識別子 SEQ ID NO			5.396.1 (Hc-S103N; Lc-K61R)	6.605.1 (Hc-H3Q,M13K,D82E; Lc- T25A,T53S)	5.948.1 (H100Y)
重鎖	完全長	DNA	21	61	121
		タンパク質	22	62	122
	可変ドメイン	DNA	23	63	123
		タンパク質	24	64	124
	CDR1	DNA	25	65	125
		タンパク質	26	66	126
	CDR2	DNA	27	67	127
		タンパク質	28	68	128
	CDR3	DNA	29	69	129
		タンパク質	30	70	130
軽鎖	完全長	DNA	31	71	131
		タンパク質	32	72	132
	可変ドメイン	DNA	33	73	133
		タンパク質	34	74	134
	CDR1	DNA	35	75	135
		タンパク質	36	76	136
	CDR2	DNA	37	77	137
		タンパク質	38	78	138
	CDR3	DNA	39	79	139
		タンパク質	40	80	140

【０２９５】

実施例6；ATCCへの核酸の寄託

以下の寄託を、表12に表されるように、ブダペスト条約に従って、American Type Culture Collection (ATCC), P.O. Box 1549, Manassas, VA 20108, USAに行った（試料は2006年11月07日に受領された）。

【０２９６】

（表１２）本発明の抗IgE抗体に関する生物学的寄託物

バイアルの番号	ベクターpCR2.1 TOPOにおけるインサート	ATCC特許寄託物番号	SEQ ID NO:
UC25516	5.396.1 ハイブリドーマからの重鎖完全長cDNA	PTA-7977	101
UC25517	5.396.1 ハイブリドーマからの軽鎖完全長cDNA	PTA-7982	103
UC25518	5.396.1 H(S103N)-hG2重鎖完全長cDNA	PTA-7981	21
UC25519	5.396.1 L(K61R)-hκ軽鎖完全長cDNA	PTA-7980	31
UC25520	5.948.1 ハイブリドーマからの重鎖完全長cDNA	PTA-7979	109
UC25521	5.948.1 ハイブリドーマからの軽鎖完全長cDNA	PTA-7986	111
UC25522	6.605.1 ハイブリドーマからの重鎖完全長cDNA	PTA-7985	105
UC25523	6.605.1 ハイブリドーマからの軽鎖完全長cDNA	PTA-7984	107
UC25524	6.605.1 H(H3Q, M13K, D82E)-hG2重鎖完全長cDNA	PTA-7983	61
UC25525	6.605.1 L(T25A, T53S)-hκ軽鎖完全長cDNA	PTA-7978	71

【０２９７】

実施例7：本発明の抗IgE抗体の組換えによる発現および精製

CMVプロモーター含有発現ベクターを、販売元のプロトコールに従って293 Freestyle（Invitrogen）細胞にトランスフェクトした。これらの細胞からの上清を遠心によって収集して、標準的なプロテインAアフィニティクロマトグラフィーによって精製して組換え型

免疫グロブリンを単離した。次にこれらのタンパク質をSDS-PAGE、SEC（サイズ排除クロマトグラフィー）、質量分析、および分光光度法によって特徴付けした。

【０２９８】

実施例8：IgE結合アッセイ

アッセイの原理

IgEに対する試験抗IgE抗体の結合を、ヒトFcεRLをトランスフェクトしたRBL-2H3細胞株を用いるIgE細胞結合アッセイにおいて試験した。このラット好塩基球細胞株は、ヒトFcεR1α、β、およびγ受容体サブユニットcDNAをトランスフェクトされている安定なクローンである（Drs Kinet and Jouvin, Beth Israel Deaconess Medical Centerから使用許可された（Wiegand TW, et al., J Immunol. 1996 Jul 1;157(1):221-30；Dibbem DA Jr, et al., J Immunol Methods. 2003 Mar 1;274(1-2):37-45））。細胞を24時間培養した後、試験抗IgE抗体およびヒトIgEと共にさらに24時間インキュベートした。抗IgE：IgE複合体を除去するために洗浄した後、FcεR1に結合した残っているIgEを、ストレプトアビジン-HRPおよびOPDと共にビオチニル化ポリクローナル抗IgE抗体によって検出した。IgE結合の低減が、抗IgE抗体により濃度に関連する様式で観察された。

【０２９９】

プロトコール

RBL-2H3（FcεR1）細胞を、2mM L-グルタミン（Sigma、カタログ番号G7513）、1 mg/mLジェネティシン液（Invitrogen、カタログ番号10131027）、および15％FBS（PAA Laboratories GmbH、カタログ番号A15-043）を添加したMEM-アール塩（Invitrogen、カタログ番号2109002）において培養した。RBL-2H3（FcεR1）細胞を滅菌96-ウェルプレート（Costar, Fisher Scientific、カタログ番号TKY-521-090S）に1×10^5個/ウェルで播種して、37℃、5％CO_2の湿潤大気中で終夜培養した。翌日、細胞を洗浄緩衝液（10％BSA、Sigmaカタログ番号A7030のPBS、Sigma、カタログ番号D8537における溶液）150μL/ウェルによって3回洗浄した。以下の段階に関するIgEおよび全ての抗体は、ジェネティシンを省略した培養培地において作製した。1μg/mL IgE（ヒト骨髄腫、アジドを含まない、Serotec、カタログ番号PHP008X2）25μLを全てのウェルに加えた（培地25μLを加えたバックグラウンド対照を除く）。必要に応じて抗体を希釈して（抗体の抗力に応じて、0.008～3μg/mlの濃度範囲）、25μLを適切なウェルに加えた（培地25μLを加えたバックグラウンド対照および陽性対照ウェルを除く）。細胞をIgEおよび抗IgE抗体と共に37℃、5％CO_2の湿潤大気中で終夜インキュベートした。次に、洗浄緩衝液150μL/ウェルによってプレートを3回洗浄して、未結合のIgEおよびIgE-抗IgE複合体を除去した。結合したIgEを、10μg/mLに希釈したポリクローナルビオチニル化抗IgE抗体（Vector Laboratories、カタログ番号BA3040）を用いて検出し、50μLを全てのウェルに加えて、37℃、5％CO_2の湿潤大気中で2時間インキュベートした。細胞を洗浄緩衝液150μL/ウェルによって3回洗浄した後、1：250に希釈したストレプトアビジン-HRP（Amersham Bioscience、カタログ番号RPN 1231）50μL/ウェルと共に45分間インキュベートした。細胞を洗浄緩衝液150μL/ウェルによって3回洗浄した。OPD（Dako、カタログ番号S2045）50μLを全てのウェルに加えて、10分間発色させた後、0.6 M H_2SO_4 50μLによって反応を停止させて、490 nmでの吸光度を測定した。

【０３００】

結果

抗体の抗力を決定するために、バックグラウンド吸光度を全ての値から差し引いた後、陽性対照に関する平均値（IgEのみ）を計算し、抗体のデータを陽性対照値からのIgE結合の％阻害として表記した。抗IgE抗体と共にインキュベートすると、濃度に関連したIgE結合の低減が起こった。本発明の抗体は全て、RBL-2H3（FcεR1）細胞に対するIgE結合の濃度に関連する低減を示し、IC_{50}値は、0.5μg/mL未満であり、これらを機能的アッセイにおいてさらに査定した。

【０３０１】

このアッセイにおいて、IC_{50}は、陽性対照ウェルの値を100％として用いてIgE結合を50％低減させるために必要な抗体の濃度として定義された。

【０３０２】
実施例9：脱顆粒アッセイの阻害
アッセイの原理
試験抗IgE抗体がIgE媒介脱顆粒を阻害する可能性を、RBL-2H3（FcεR1）細胞を用いて決定した。細胞を試験抗IgE抗体およびヒトIgEと共に48時間培養した。細胞を洗浄して抗IgE：IgE複合体を除去して、FcεR1に結合したIgEを残した後、結合したIgEとクロスリンクするポリクローナル抗IgE抗体によって刺激すると、IgE媒介脱顆粒が得られた。ヒスタミンの放出を、脱顆粒のマーカーとしてこのアッセイのエンドポイントとして用いて、試験抗IgE抗体の濃度を増加させると、濃度に関連するヒスタミン放出の低減が観察された。

【０３０３】
プロトコール
RBL-2H3（FcεR1）細胞を、2mM L-グルタミン（Sigma、カタログ番号G7513）、1 mg/mLジェネティシン液（Invitrogen、カタログ番号10131027）、および15％FBS（PAA Laboratories GmbH、カタログ番号A15-043）を添加したMEM-アール塩（Invitrogen、カタログ番号2109002）において培養した。RBL-2H3（FcεR1）細胞を滅菌96-ウェルプレート（Costar, Fisher Scientific、カタログ番号TKY-521-090S）に1×10^5個/ウェルで播種して、0.0625μg/mL IgE（ヒト骨髄腫、アジドを含まない、Serotec、カタログ番号PHP008X2）、および試験抗IgE抗体（抗体の抗力に応じて0.0001～30μg/mL濃度の範囲）と共に37℃、5％CO_2の湿潤大気中で48時間インキュベートした。細胞、抗体、およびIgEは全て、MEM-アール塩（Invitrogen、カタログ番号2109002）、2mM L-グルタミン（Sigma、カタログ番号G7513）、および15％FBS（PAA Laboratories GmbH、カタログ番号A15-043）において調製した。48時間後、細胞を、10％熱不活化（56℃の水浴で30分間）FBS（PAA Laboratories GmbH、カタログ番号A15-043）、0.2％重炭酸ナトリウム（Sigma、カタログ番号S8761）を添加した1×RPMI（Sigma、カタログ番号R1145）によって洗浄して、刺激前に未結合の抗IgEおよびIgE：抗IgE複合体を除去した。細胞を、受容体結合IgEとクロスリンクする5μg/mLポリクローナル抗IgE抗体（Sigma、カタログ番号I0632）によって1時間刺激した。2％ Triton-X100（Sigma、カタログ番号T9284）溶解ウェルおよび刺激培地単独で刺激した細胞からの自然発生放出から総ヒスタミンを決定した。抗IgEおよびTriton-X-100を刺激培地において希釈した。刺激培地は、10％熱不活化（56℃の水浴で30分間）FBS（PAA Laboratories GmbH、カタログ番号A15-043）、2％重炭酸ナトリウム（Sigma、カタログ番号S8761）、および45％酸化ジュウテリウム（Fisher Scientific、カタログ番号16631-1000）を添加した1×RPMI（Sigma、カタログ番号R1145）を含んだ。細胞を37℃、5％CO_2の湿潤大気中で1時間刺激した。次に、プレートを遠心して（200×g、5分）、上清をヒスタミン放出の測定のために収集した。ヒスタミン放出は、脱顆粒のマーカーとして製造元の説明書に従ってELISAによって測定した（IBL、カタログ番号CVRE59221）。

【０３０４】
結果
ヒスタミンの放出を、総放出の百分率として表記した後、特異的放出を計算して、自然発生放出を以下のように％値から差し引いた：
－　％総ヒスタミン放出＝（試験または自然発生対照ウェルにおけるヒスタミンng/mL／総ウェルにおけるヒスタミンの平均値ng/mL）×100
－　特異的放出＝（試験ウェルにおける総ヒスタミン放出の％）－（自然発生ウェルからの総ヒスタミン放出の％の平均値）。

【０３０５】
抗体の効果を、抗IgE抗体の非存在下（IgEおよび細胞のみ）でインキュベートした対照ウェルから放出されたヒスタミンの％阻害として表記した。
－　％阻害＝（（ポリクローナル抗IgEによって刺激された対照ウェルの平均値－ポリクローナル抗IgEによって刺激された試験抗体ウェル）／ポリクローナル抗IgEによって刺激された対照ウェルの平均値）×100。

【０３０６】

IC_{50}値は、対照のヒスタミン放出を50％阻害するために必要な抗体濃度であり、表13において詳述される。本発明の抗IgE抗体は、それらが脱顆粒のマーカーとしてIgE媒介ヒスタミンの放出の阻害においてE25より有意に強力であるという点において都合がよい。

【０３０７】

（表１３）IgE媒介脱顆粒の阻害における本発明の抗IgE抗体のIC_{50}値

抗IgE抗体	IC_{50} - μg/mL (95%信頼区間)	'n'
E25	1.47 (1.24-1.74)	83
5.396.1 (組換え型)	0.0709 (0.0572-0.0879)	43
5.396.1 (Hc-S103N Lc-K61R)	0.0262 (0.0201-0.0341)	24
6.605.1 (組換え型)	0.124 (0.0980-0.157)	52
6.605.1 (Hc-H3Q,M13K,D82E Lc-T25A,T53S)	0.0736 (0.0491-0.110)	4
5.948.1 - バッチ 1 (762.8μg/mL) (組換え型)	0.360 (0.339-0.382)	3
5.948.1 - バッチ 2 (5.2mg/mL) (組換え型)	0.123 (0.077-0.195)	24
5.948.1 (Hc-H100Y)	0.0121 (0.00878-0.0167)	24

データは95％信頼区間を伴うIC_{50}の幾何平均値である。

【０３０８】

実施例10：RBL-2H3（FcεR1）アゴニスト活性

アッセイの原理

試験抗IgE抗体が受容体結合IgEにクロスリンクして、IgE依存的脱顆粒を刺激することができるか否かをRBL-2H3（FcεR1）細胞を用いて決定した。細胞をヒトIgEと共に48時間培養した後、洗浄して未結合のIgEを除去した。次に、試験抗IgE抗体を細胞に加えて、それらが受容体結合IgEに結合およびクロスリンクして脱顆粒を引き起こすことができるか否かを決定した。脱顆粒のマーカーとしてヒスタミン放出を測定した。試験抗IgE抗体との比較を可能にするために、陽性対照および陰性対照抗IgE抗体を全てのアッセイにおいて用いた。

【０３０９】

プロトコール

細胞を、脱顆粒アッセイの阻害に関して記載されるように培養した。アゴニストアッセイに関して、細胞を滅菌96ウェルプレート（Costar, Fisher Scientific、カタログ番号TKY-521-090S）に1×10^5個/ウェルで0.25μg/mL IgE（ヒト骨髄腫、アジドを含まない、Serotec、カタログ番号PHP008X2）と共に播種して、37℃、5％CO_2の湿潤大気中で48時間インキュベートした。細胞およびIgEをMEM-アール塩（Invitrogen、カタログ番号2109002）、2mM L-グルタミン（Sigma、カタログ番号G7513）、および15％FBS（PAA Laboratories GmbH、カタログ番号A15-043）において調製した。

【０３１０】

48時間後、細胞を、10％熱不活化（56℃の水浴で30分間）FBS（PAA Laboratories GmbH、カタログ番号A15-043）、および0.2％重炭酸ナトリウム（Sigma、カタログ番号S8761）を添加した1×RPMI（Sigma、カタログ番号R1145）によって洗浄して、抗IgE抗体による刺激前に未結合の抗IgEを除去した。受容体結合IgEにクロスリンクすることが知られているポリクローナル抗IgE抗体（Sigma、カタログ番号I0632）を陽性対照として用いた。試験および対照抗体を0.04～10μg/mLで試験した。2% Triton-X100（Sigma、カタログ番号T9284）溶解ウェルおよび刺激培地単独で刺激した細胞からの自然発生放出から総ヒスタミンを決定した。抗体およびTriton-X-100は刺激培地において希釈した。刺激培地は、10％熱不活化（56℃の水浴で30分間）FBS（PAA Laboratories GmbH、カタログ番号A15-043）、2％重炭酸ナトリウム（Sigma、カタログ番号S8761）、および45％酸化ジュウテリウム（Fisher Scientific、カタログ番号16631-1000）を添加した1×RPMI（Sigma、カタログ番号R1145）を含んだ。細胞を37℃、5％CO_2の湿潤大気中で1時間刺激した。次に、プレー

トを遠心して（200×g、5分）、上清をヒスタミン放出の測定のために収集した。ヒスタミン放出は、脱顆粒のマーカーとして製造元の説明書に従ってELISA（IBL、カタログ番号CVRE59221）によって測定した。ヒスタミンの放出を総放出の百分率として計算して、抗体の効果を総放出の百分率として表記した。

【０３１１】

結果

ポリクローナル抗IgEを全ての実験において陽性対照として用いて、これはヒスタミン放出（総ヒスタミンの～30％）を刺激した。都合のよいことに、本発明の抗IgEモノクローナル抗体のいずれも、0.04～10μg/mLの濃度で試験した場合に、自然発生放出を超えてIgE媒介ヒスタミン放出を刺激しなかった（図1および2を参照されたい）。この知見は、インビボにおいて本発明の抗IgE抗体がFcεRI受容体結合IgEにクロスリンクせず、したがって脱顆粒を刺激しないであろうことを示唆している。

【０３１２】

実施例11：ヒト血中好塩基球アゴニストアッセイ

アッセイの原理

RBL-2H3（FcεR1）アゴニストアッセイと同じ原理を用いて、新鮮な全血から単離したヒト血中好塩基球においてアゴニスト活性がないことを確認した。

【０３１３】

プロトコール

ヒト単核球細胞をHistopaqueチューブ（Sigma、カタログ番号A0561）を用いて全血から単離した。健康なボランティアからの新鮮なヒト静脈血を、10 mg/mLヘパリン（Sigma、カタログ番号H3393）1 mLを含有する50 mL試験管に収集した。血液を5％FCS/PBS（FCSはPAA Laboratories GmbHから、カタログ番号A15-043、およびPBSはSigmaから、カタログ番号D8537）において1：1に希釈した後、Histopaqueチューブ（Sigma、カタログ番号A0561）に注いで、これを500×gで35分間遠心した。バフィーコートを収集して、洗浄し、10％FBS（PAA Laboratories GmbH、カタログ番号A15-043）を含有するRPMI培地（Invitrogen、カタログ番号32404-014）に再懸濁した。細胞を、1.2×10^7個白血球/mLとなるように希釈した後、先に記載したように、96ウェル滅菌細胞培養プレート（Costar, Fisher Scientific、カタログ番号TKY-521-090S）に6×10^5個/ウェルで加えて、ヒトIgE（ヒト骨髄腫、アジドを含まない、Serotec、カタログ番号PHP008X2）を10％FBSを有するRPMI培地において最終濃度0.5μg/mlで加えた。細胞を37℃、5％CO_2の湿潤大気において終夜インキュベートした。抗IgE抗体（0.15～20μg/mL）によって刺激する前に培地を除去した。受容体結合IgEにクロスリンクすることが知られているポリクローナル抗IgE抗体（Sigma、カタログ番号I0632）を陽性対照として用いた。0.3％ Triton-X100（Sigma、カタログ番号T9284）溶解ウェルおよび培地単独で刺激した細胞からの自然発生放出から総ヒスタミンを決定した。抗体およびTriton-X-100を細胞培地において希釈して、自然放出ウェルを、細胞培地単独と共にインキュベートした。細胞培地は、10％FBS（PAA Laboratories GmbH、カタログ番号A15-043）を有するRPMI培地（Invitrogen,、カタログ番号32404-014）を含んだ。細胞を37℃、5％CO_2の湿潤大気中で30分間刺激した。次に、プレートを遠心して（200×g、5分）、上清をヒスタミン放出の測定のために収集した。ヒスタミン放出は、脱顆粒のマーカーとしてELISAによって測定した（IBL、カタログ番号CVRE59221、製造元の説明書に従って）。ヒスタミン放出は、総放出の百分率として計算し、抗体の効果を総放出の百分率として表記した。

【０３１４】

結果

ポリクローナル抗IgEを全ての実験おいて陽性対照として用いて、これはヒスタミンの大きい放出（総ヒスタミンの～50％）を引き起こした。都合のよいことに、本発明の抗IgEモノクローナル抗体のいずれも、0.15～20μg/mLの濃度で試験した場合に、これらの細胞から自然発生放出を超えてIgE媒介ヒスタミン放出を刺激しなかった（図3および4を参照されたい）。本発明の抗IgE抗体が単離されたヒト血中好塩基球に対してアゴニスト活

性を有しないという知見は、RBL-2H3（FcεR1）細胞アゴニストアッセイ（上記を参照されたい）において認められた知見を確認する。

【０３１５】

実施例12：インビトロでヒト血清からの遊離のIgEの枯渇

アッセイ原理

試験抗IgE抗体が血清中でIgEに対して結合して遊離のIgEレベルを低減させるか否かをインビトロで測定した。試験抗IgE抗体（本明細書において、以降試験抗体）を血清中で個々に終夜インキュベートして、血清中のIgEに対して試験抗体を結合させた。残っている遊離のIgE（すなわち、試験抗体に結合していない）をELISAによって測定して、この場合、同じ試験抗体自身をプレート上で捕獲試薬として用いた。対照アッセイは、遊離のIgEが捕獲試薬に結合するが、（試験抗体）IgE複合体は結合しないことを示している。次に、血清（試験抗体）インキュベート物を捕獲試薬と共に2時間インキュベートして、「残っている」遊離のIgEを捕獲試薬に結合させた。プレートを洗浄して（試験抗体）-IgE複合体を除去して、「残っている」遊離のIgEを捕獲試薬に結合させたままとした。次に、この「残っている」遊離のIgE（ELISAプレート上に結合した）を、ビオチニル化ポリクローナル抗IgE抗体によって検出した。試験抗体の濃度を増加させると、遊離のIgE測定の濃度関連低減が観察された。

【０３１６】

このように、アッセイは以下のように概要される可能性がある：

－　試験抗体を血清と共に～16時間インキュベートする；

－　遊離のIgEを検出するために、（試験抗体）／血清を捕獲ELISAプレートに加えて、2時間インキュベートする（捕獲ELISAプレートは同じ試験抗体によってコーティングされる）；

－　洗浄して、（試験抗体）-IgE複合体を除去し、「残っている」遊離のIgEをプレート上の捕獲抗体に結合したままにする；

－　ビオチニル化ポリクローナル抗IgE、ストレプトアビジン-HRP、およびOPD検出システムを用いて、プレート上で捕獲された結合した「残っている」「遊離のIgE」を測定する。

【０３１７】

プロトコール

50 mM TBS pH 8.0（Sigma、カタログ番号T6664）において希釈した試験抗IgE抗体、または抗体を含まないTBS対照5μLを、健康なボランティアから収集した非希釈血清45μLに加えて、滅菌96ウェルプレート（Costar, Fisher Scientific、カタログ番号TKY-521-090 S）において37℃、5%CO_2の湿潤大気中で終夜インキュベートして、試験抗体を血清中のIgEに結合させた。ELISAプレートは、Nunc Maxisorp 96-ウェルプレート（Fisher Scientific、カタログ番号DIS-971-010P）を、2.5μg/mL捕獲抗IgE抗体（TBSにおいて希釈、Sigma、カタログ番号T6664）50μLによって4℃で終夜コーティングすることによって調製した。翌日、ELISAプレートを洗浄緩衝液（0.05%Tween-20、Sigma、カタログ番号P7949/TBS）300μL/ウェルで1回洗浄した後、1%BSA（Sigma、カタログ番号A7030）のTBS溶液150μL/ウェルによって室温で1時間ブロックした。次に、プレートを洗浄緩衝液300μL/ウェルによって1回洗浄した後、全て1%BSA/0.05% Tween-20/TBS希釈緩衝液において希釈したIgE標準物質、抗IgE/血清試料、または希釈ブランク50μLを加えた。NIBSC（National Institute for Biological Standards and Control、カタログ番号75/502）からのヒト血清IgE標準物質を、このアッセイにおける標準物質として用いて、3～200 ng/mLの標準曲線をそれぞれのプレートにおいて用いた。血清の干渉を消失させるために、血清を少なくとも1：10に希釈する必要があった。新しいドナーの場合、血清を1：10、1：50、および1：200に希釈して、標準曲線の直線部における値を予測しながら、血清の干渉を消失させるために最も適した希釈を決定した。一般的な原則として、＜200 ng/mL IgEを有する血清は1：10に希釈して、＞200 ng/mL IgEを有する血清は1：50または1：200に希釈した。標準物質および試料を室温で2時間インキュベートした後、洗浄緩衝液300μLによって4回洗浄し

た。捕獲された遊離のIgEを、1%BSA/0.05%Tween-20/TBS希釈緩衝液において0.5μg/mLに希釈したビオチニル化ポリクローナル抗IgE（Vector Laboratories、カタログ番号BA3040）50μL/ウェルによって検出した。ウェルを室温で1時間インキュベートした後、洗浄した（洗浄緩衝液300μLによって4回）。希釈緩衝液中で1：1000希釈したストレプトアビジン-HRP（Amersham Bioscience、カタログ番号RPN 1231）50μLを全てのウェルに加えて、室温で45分間インキュベートした。ウェルを洗浄した（洗浄緩衝液300μLによって4回）。OPD（Dako、カタログ番号S2045）50μLを全てのウェルに加えて、10分間発色させた後、0.6 M H_2SO_4 50μLによって反応を停止させて、490 nmでの吸光度を測定した。検出されたIgE濃度は、NIBSC標準曲線をプロットして、標準曲線からIgE濃度を外挿することによって計算した。

【０３１８】

次に、これらの値に希釈倍数を乗じてIgE濃度をng/mLで生じた。遊離のIgE（ng/mL）を抗体濃度に対してプロットした。

【０３１９】

結果

抗体の抗力を、血清中の遊離のIgE濃度を約25 ng/mLまで低減させるために必要な濃度（$IC_{25ng/mL}$）として表記した。都合がよいことに、本発明の抗IgE抗体は、遊離のIgEを25 ng/mL未満まで低減させることができた（表14～15を参照されたい）。

【０３２０】

（表１４）ヒト血清試料において遊離のIgEレベルを約25 ng/mLの値まで低減させるために必要な試験抗IgE抗体（μg/mL）の濃度

DIN：ドナー識別番号

捕捉／試験抗体	E25	5.396.1 (組換え型)	5.396.1 S103N K61R	6.605.1 (組換え型)	6.605.1 H3Q M13K D82E T25A T53S	5.948.1 (組換え型)	5.948.1 H100Y	平均初回遊離のIgEレベル (ng/mL)
血清試料	遊離のIgE濃度を約25 ng/mLの値まで低減させるために必要な試験抗体の濃度（μg/mL）							
DIN 0461	65	nd	0.15	nd	nd	1.47	0.34	80
DIN 0155	103	nd	0.14	nd	nd	1.81	0.34	93
DIN 0649	139	nd	0.46	nd	nd	1.95	0.39	93
DIN 0623 実験 2	90	nd	0.20	nd	nd	4.13	0.76	133
DIN 0623 実験 1	39	0,27	0,37	0,38	0,19	0,50	nd	145
DIN 0591	139	nd	0.24	nd	nd	2.35	0.55	152
DIN 0347	211	nd	0.48	nd	nd	4.92	1.33	221
DIN 0321 実験 1	105	0,67	0,85	1,99	0,51	1,34	nd	262
DIN 0321 実験 2	202	nd	0.45	nd	nd	7.90	2.55	265
DIN 0632 実験 2	275	nd	nd	nd	nd	6.31	2.29	289
DIN 0011 実験 2	325	nd	0.77	nd	nd	6.34	2.96	326
DIN 0284	145	0,87	0,98	2,40	0,99	2,45	nd	339
DIN 0632 実験 1	385	1,43	1,11	nd	2,80	8,91	nd	532
DIN 0451 実験 2	587	nd	2.21	nd	nd	39.67	10.46	534
DIN 0011 実験 1	202	0,98	1,12	5,00	2,29	3,30	nd	555
DIN 0451 実験 1	410	1,81	1,59	10,84	3,71	11,61	nd	557
DIN 0707	653	2,87	2,75	nd	nd	nd	nd	1051
DIN 0749	843	3,12	2,83	nd	nd	nd	nd	1140
DIN 0356	2334	3,60	4,31	11,63	nd	nd	nd	1350
DIN 0251	2914	3,87	4,68	27,94	nd	nd	nd	1632
DIN 0382	10629	5,74	7,09	nd	nd	25,00	nd	2827
DIN 0748	30737	10,92	10,69	nd	nd	25,13	nd	4609
幾何平均 (95%信頼区間)	381 (184-791)	2.0 (1.0-3.8)	1.0 (0.6-1.8)	4.4 (1.2-16.4)	1.1 (0.3-3.8)	4.7 (2.6-8.3)	1.2 (0.5-2.6)	

nd:決定していない

【０３２１】

（表１５）ヒト血清試料における試験抗IgE抗体による遊離のIgEの低減

抗体	$IC_{25ng/mL}$ (μg/mL)	初回IgE濃度 (ng/mL)	'n'
E25	381 (184-791)	639 (278-1001)	22
5.396.1 (組換え型)	2.0 (1.0-3.8)	1207 (335-2079)	12
5.396.1 (Hc-S103N Lc-K61R)	1.0 (0.6-1.8)	791 (296-1287)	21
6.605.1 (組換え型)	4.4 (1.2-16.4)	757 (206-1308)	7
6.605.1 (Hc-H3Q,M13K,D82E Lc-T25A,T53S)	1.1 (0.3-3.8)	464 (255-673)	6
5.948.1 - バッチ 1 (762.8μg/mL) (組換え型)	4.7 (2.6-8.3)	713 (60-1365)	18
5.948.1 (Hc-H100Y)	1.2 (0.5-2.6)	223 (130-316)	10

データは、ドナー6～22人からの95％信頼区間を伴う幾何平均$IC_{25\ ng/mL}$である。

【０３２２】
本発明の抗IgE抗体（5.396.1、5.396.1 Hc-S103N Lc-K61R、6.605.1、6.605.1 Hc- H3Q,M13K,D82E Lc-T25A,T53S、および5.948.1）は、遊離のIgEレベルを25 ng/mL未満へと低減することが示されている。E25も同様に遊離のIgEを25 ng/mL未満へと低減させることができる；しかし、有意により多くの抗体が必要である（すなわち、より高い$IC_{25ng/mL}$）。臨床的に、これは、循環中の遊離のIgEレベルを低下させることに対して同じ効果を生じるモノクローナル抗体の用量を低下させることができ、有利となりうるであろう。加えて、増加した患者集団、すなわちより高い初回の遊離のIgE濃度および／またはより重い体重を有する患者を処置することができるであろう。

【０３２３】
実施例13：他の免疫グロブリンに対する選択性
アッセイの原理
本発明の抗IgE抗体の他のヒト免疫グロブリン（IgA、IgE、IgG1およびIgG3）との交差反応性をELISAアッセイにおいて決定した。免疫グロブリンをプレート上にコーティングして、試験抗IgE抗体をインキュベートした後、ビオチニル化抗IgG2抗体との結合を検出した。

【０３２４】
プロトコール
IgA（Sigma、カタログ番号I2636）、IgE（Serotec、カタログ番号PHP008X2）、IgG1（Biodesign、カタログ番号A50183H）、およびIgG3（Biodesign、カタログ番号A50186H）を、PBS（0.01 Mリン酸緩衝液、0.0027 M塩化カリウム、0.137 M塩化ナトリウム、pH 7.4、Sigma、カタログ番号P4417）において4μg/mLでNunc Maxisorp（商標）96-ウェルプレート（Fisher Scientific、カタログ番号DIS-971-010P）上に4℃で終夜直接コーティングした。ウェルを洗浄緩衝液（0.05%Tween-20（Sigma、カタログ番号P7949）/PBS）150μLによって3回洗浄した後、ブロッキング緩衝液（2.5%BSA（Sigma、カタログ番号A7030）/PBS）150μL/ウェルによって室温で2時間ブロックした。ウェルを洗浄緩衝液150μL/ウェルによって3回洗浄した。対照マウス抗IgA（Serotec、カタログ番号MCA476G）、マウス抗IgE（Biodesign、カタログ番号Z86410M）、マウス抗IgG1（Serotec、カタログ番号MCA514G）、およびマウス抗IgG3（Biodesign、カタログ番号Z20152M）を対照ウェルに250 ng/mL、800 ng/mL、または50μg/mLで加えた。試験抗体は全てヒトIgG2アイソタイプであり、これらを250 ng/mL、50μL/ウェルでウェルに加えた。抗体を希釈緩衝液（PBS/1%BSA/0.05%Tween-20）において希釈して、これをブランク対照ウェル（用いた各二次抗体に関して1試料あたりウェル2個ずつ）に加えた。抗体を室温で2時間インキュベートした。ウェルを洗浄緩衝液150μL/ウェルによって3回洗浄した。免疫グロブリンに対する対照抗体の結合を、希釈緩衝液において1：8000に希釈した抗マウスIgG-HRP共役体（Sigma、カタログ番号A4416）によって検出した。50μL/ウェルを対照抗体およびブランクウェルに加えた。ウェルを室温で1時間インキュベートした後、洗浄緩衝液150μL/ウェルによって3回洗浄した。OPD（Dako、カタログ番号S2045）50μLを全てのウェルに加えて、10分間発色させた後、0.6 M H_2SO_4によって反応を停止させて、490 nmでの吸光度を測定した。試験IgG2抗IgE抗体の結合をビオチニル化抗ヒトIgG2（Zymed、カタログ番号05-3540）を用いて検出した。この抗体を希釈緩衝液において1：500に希釈した後、試験抗体およびブランクウェルに50μL/ウェルを加えた。ウェルを室温で1時間インキュベートした後、洗浄緩衝液150μL/ウェルによって3回洗浄した。希釈緩衝液において1：2000に希釈したストレプトアビジン-HRP（Amersham Bioscience、カタログ番号RPN 1231）を全てのウェルに加えて、室温で45分間インキュベートした。ウェルを洗浄した（洗浄緩衝液150μL/ウェルによって3回）。OPD（Dako、カタログ番号S2045）50μLを全てのウェルに加えて、10分間発色させた後、0.6 M H_2SO_4 50μLによって反応を停止させて、490 nmでの吸光度を測定した。

【０３２５】
結果

本発明の抗IgE抗体のいずれに関しても、250 ng/mLまたは800 ng/mLで試験した場合に、IgA、IgG1、またはIgG3に対する結合は検出されず、IgEに対する結合に関して大きいシグナルが認められた（表16）。これらの知見は、本発明の抗IgE抗体がIgA、IgG1、およびIgG3と比較してIgEに関して非常に選択的であることを示している。

【０３２６】

（表１６）IgA、IgG1、IgG3、およびIgEに対する抗IgE抗体の結合

抗体	免疫グロブリン			
	IgA	IgG1	IgG3	IgE
5.396.1 (組換え型)	0.04	0.07	0.05	2.83
5.396.1 S103N/K61R	0.04	0.08	0.05	2.80
6.605.1 (組換え型)	0.04	0.07	0.05	3.01
6.605.1 H3Q M13K D82E/T25A T53S	0.04	0.07	0.04	2.92
5.948.1 (組換え型)	0.04	0.07	0.04	2.57
5.948.1 (Hc-H100Y)	0.05	0.06	0.06	1.05

値はA_{290nm}である。

【０３２７】

実施例14：BIAcore（商標）による親和性定数（K_D）の決定

アッセイの原理

速度定数k_{on}およびk_{off}を、BIAcore（商標）3000機器（BIAcore（商標）、Uppsala、Sweden）を用いて、共有結合的に固定した抗IgE抗体に対する完全長のヒトIgE（Serotec、カタログ番号PHP008X2、またはEuropa Bioproducts、カタログ番号CP1035K）の連続希釈液の結合によって決定した。

【０３２８】

プロトコール

共有結合的な抗IgE抗体の固定に関して、標準的なEDC-NHSアミンカップリング化学を用いた。CM5センサーチップ（BIAcore（商標））および固定緩衝液として10 mM酢酸ナトリウム、pH 5.0を用いて50～600 RUの固定結合応答を得た。参照フローセルを活性化して（EDC-NHSによって）、ブロックした（エタノールアミンによって）が、タンパク質は固定されなかった。速度論の測定は、HBS-EP緩衝液（10 mM HEPES、150 mM NaCl、3 mM EDTA、0.005 v/v%Surfactant P20 pH 7.4、BIAcore（商標）によって供給される）において、0.09～600 nMのIgE濃度範囲で流速50または100μL/分で行った。各濃度の注入時間は3.25分でありその後、20分の解離相が続いた。解離相の後に再生段階が含まれ、様々な抗体に関して用いられる条件を以下の表17に与える。

【０３２９】

（表１７）それぞれの抗IgE抗体に関して用いられる再生条件

抗IgE抗体	再生溶液	注入時間 (s)	流速 (μL/分)
5.396.1 (組換え型)	10mM グリシンpH1.7	6	100
5.396.1 (Hc-S103N Lc-K61R)	10mM グリシンpH1.7	9	100
6.605.1 (組換え型)	10mM グリシンpH1.5	6	50
6.605.1 (Hc-H3Q,M13K,D82E Lc-T25A,T53S)	10mM グリシンpH1.5	6	50
5.948.1 (組換え型)	10mM グリシンpH1.5	12	50
5.948.1 (Hc-H100Y)	10mM グリシンpH1.5	12	50

【０３３０】

結果

全てのセンサーグラムをBIA評価ソフトウェア4.1（BIAcore（商標））およびScrubberソフトウェアバージョン2.0（BioLogic Software）を用いて局所で適合させた。本発明の抗IgE抗体は、IgEに対して類似のナノモル濃度の親和性を示す（表18を参照されたい）。

【０３３１】

（表１８）抗IgE抗体に関する親和性値

抗IgE抗体	K_D (親和性)	オンレート (k_a), $M^{-1}s^{-1}$	オフレート (k_d), s^{-1}
5.396.1 (組換え型)	2.50nM	3.23×10^4	8.09×10^{-5}
5.396.1 (Hc-S103N Lc-K61R)	3.95nM	2.36×10^4	9.29×10^{-5}
6.605.1 (組換え型)	2.74nM	6.34×10^4	1.74×10^{-4}
6.605.1 (Hc-H3Q,M13K,D82E Lc-T25A,T53S)	2.94nM	3.02×10^4	8.88×10^{-5}
5.948.1 (組換え型)	1.32nM	2.36×10^4	3.11×10^{-5}
5.948.1 (Hc-H100Y)	158.9pM	1.51×10^5	2.42×10^{-5}

【０３３２】

実施例15：エピトープ選択性の同定

アッセイ原理

BIAcore（商標）ビニングを用いて抗IgE抗体によって認識される相対的エピトープをマッピングした。

【０３３３】

プロトコール

試験抗IgE抗体（E25；組換え型5.396.1；5.396.1 Hc-S103N Lc-K61R；組換え型6.605.1；6.605.1 Hc-H3Q,M13K,D82E Lc-T25A,T53S；組換え型5.948.1、および5.948.1 Hc-H100Y）をBIAcore（商標）3000機器（BIAcore（商標）、Uppsala, Sweden）および標準的なEDC-NHSアミンカップリング化学を用いて、CM5バイオセンサーチップの個別のフローセルに固定した。固定緩衝液は10 mM酢酸ナトリウム、pH 5.0であった。全ての場合において約1500 RUのタンパク質密度が達成された。

【０３３４】

エピトープビニング実験を、HBS-EP実施緩衝液（0.01 M HEPES pH 7.4、0.15 M NaCl、3mM EDTA、0.005％Polysorbate 20）を用いて行った。ヒトIgE（5μg/mL、Serotec、カタログ番号PHP008X2）を、流速50μL/分で容積100μLで第一のフローセル全体に注入した。注入が完了した後、第一の抗体プローブを同じフローセルに加えた。全てのプローブ抗体をHBS-EPにおいておよそ10μg/mLの濃度まで希釈して、容積100μLを流速50μL/分で注入した。試験抗体の結合が観察されなかった場合、次の試験クローンに直後に注入した。ビニングが起これば、グリシンpH 1.5を6秒間注入することによってセンサー表面を再生した。再生後、IgEを再度結合させて、さらなる試験抗体を注入した。クローンの全パネルが、固定された抗体プラス結合IgEの表面に注入されるまで、これらの技法を行った。異なる固定抗体プラス結合IgEを有する新しいフローセルを試験クローンによるプロービングのために用いた。

【０３３５】

結果

抗体対の組み合わせをこのようにして試験して、結合が観察されたか否かに基づいて応答行列を作成した（表19および図5を参照されたい）。エピトープビニングデータは、抗IgE抗体のいくつかが、重なり合うエピトープを共有するが、他は別個のエピトープを有することを示唆している。

【０３３６】

（表１９）エピトープビニング応答行列（x＝結合なし、∨＝結合）

固定された抗体	2° Ab E25	2° Ab 5.396.1	2° Ab 5.396.1 S103N/K61R	2° Ab 6.605.1	2°Ab 6.605.1 QKE T25A T53S	2°Ab 5.948.1	2°Ab 5.948.1 H100Y
E25	x	x	x	√	√	x	x
5.396.1 (組換え型)	x	x	x	x	x	x	NT
5.396.1 (Hc-S103N Lc-K61R)	x	x	x	x	x	x	x
6.605.1 (組換え型)	√	x	x	x	x	√	NT
6.605.1 (Hc-H3Q, M13K, D82E Lc-T25A, T53S)	√	√	√	x	x	√	NT
5.948.1 (組換え型)	x	x	x	√	√	x	x
5.948.1 (Hc-H100Y)	x	NT	x	NT	NT	x	x

【０３３７】

実施例16：種交差反応性の同定

アッセイ原理

ELISAおよびBIAcore（商標）実験を用いて、抗IgEモノクローナル抗体と、イヌ、ラット、マウス、およびカニクイザルからのIgEとの交差反応性を測定した。

【０３３８】

プロトコール

イヌ、ラット、およびマウスIgEに対する選択性スクリーニングをBIAcore（商標）を用いて決定した。精製したイヌ（Bethyl、カタログ番号P115）、ラット（Serotec、カタログ番号PRP07A）、およびマウスIgE（Serotec、カタログ番号PMP68）を、これらの種からのIgEが交差反応するか否かを決定するために、共有結合的に固定した抗IgE（E25；5.396.1；5.396.1 Hc-S103N Lc-K61R；6.605.1；6.605.1 Hc-H3Q,M13K,D82E Lc-T25A,T53S；および5.948.1）の上に注入した。本発明の抗IgE抗体をBIAcore（商標）3000機器（BIAcore（商標）、Uppsala, Sweden）および標準的なEDC-NHSアミンカップリング化学を用いて、CM5センサーチップ上に共有結合的に固定した。10 mM酢酸ナトリウムpH 5.0を固定緩衝液として用いて、125 RUの固定結合応答を達成した。参照フローセルを活性化（EDC-NHSによって）およびブロックしたが（エタノールアミンによって）、タンパク質は固定されなかった。結合測定は、HBS-EP緩衝液（10 mM HEPES、150 mM NaCl、3mM EDTA、0.005 v/v%Surfactant P20 pH 7.4、BIAcore（商標）によって供給）においてIgE濃度30μg/mLを用いて流速100μL/分で行った。各IgEに関する注入時間は3.25分であった。ヒトIgE（30μg/mL、Serotec、カタログ番号PHP008X2）も同様に陽性対照として用いた。各IgEの注入前後の応答レベルを得た。

【０３３９】

カニクイザルIgEに対する交差反応性を測定するために、血清をIgE源として用い、ELISA方法論を用いて交差反応性を試験した。試験抗IgE（E25；5.396.1；5.396.1 Hc-S103N Lc-K61R；6.605.1；6.605.1 Hc-H3Q,M13K,D82E Lc-T25A,T53S；および5.948.1）をNunc Maxisorp（商標）96-ウェルプレート（Fisher Scientific、カタログ番号DIS-971-010P）上に50 mM TBS pH 8.0（Sigma、カタログ番号T6664）において2.5μg/mLで4℃で終夜コーティングした。ウェルを洗浄緩衝液（0.05%Tween-20、Sigma、カタログ番号P7949/TBS）150μL/ウェルによって1回洗浄後、1%BSA（Sigma、カタログ番号A7030）のTBS溶液150μL/ウェルによって室温で2時間ブロックした。ウェルを洗浄緩衝液150μLによって2回洗浄し

た。ヒト（社内ドナー）またはカニクイザル血清（Harlan Sera-Lab Ltd, Loughborough）50μLを、未希釈から1%BSA/0.05%Tween-20/TBS希釈緩衝液における少なくとも1：16希釈まで加えた。NIBSC（National Institute for Biological Standards and Control、カタログ番号75/502）からのヒト血清IgE標準物質をこのアッセイにおける標準物質として用いて、各プレートにおいて3～200 ng/mLの標準曲線を用いた。ウェルを25℃で2時間インキュベートした後、洗浄（洗浄緩衝液150μLによって3回）した。結合したIgEを、希釈緩衝液において1：1000に希釈したビオチニル化ポリクローナル抗IgE（Kirkegaard & Perry Laboratories, Cat. No. 16-10-04）を用いて検出した。ウェルを25℃で1時間インキュベートした後、洗浄（洗浄緩衝液150μLによって3回）した。希釈緩衝液において1：1000に希釈したストレプトアビジン-HRP（Amersham Bioscience、カタログ番号RPN 1231）を全てのウェルに加えて、室温で45分間インキュベートした。ウェルを洗浄した（洗浄緩衝液150μLによって3回）。OPD（Dako、カタログ番号S2045）50μLを全てのウェルに加えて、10分間発色させた後、0.6 M H_2SO_4 50μLによって反応を停止させて、490 nmでの吸光度を測定した。NIBSC標準曲線をプロットして、標準曲線からIgE濃度を外挿することによって、検出されたIgE濃度を計算した。これらの値に希釈倍数を乗じてIgE濃度をng/mLで与えた。捕獲抗体がカニクイザルIgEに結合するか否かを、血清において検出されたIgE濃度によって推定して、これをカニクイザルIgEに結合することが知られている抗IgE抗体と直接比較することができる。

【０３４０】

結果

BIAcore（商標）によって行われた結合実験は、30μg/mLまでのIgE濃度で、本発明の抗IgE抗体がいずれもイヌ、ラット、またはマウスIgEと相互作用しないことを証明した。カニクイザル血清を用いるELISAアッセイは、抗IgE抗体がカニクイザルIgEと多様な程度で交差反応することを示唆した。これらのデータを表20に表す。

【０３４１】

（表２０）抗IgEモノクローナル抗体を捕獲抗体として用いる場合のカニクイザル血清試料8例において検出されたIgE濃度（ng/mL）

ヒト血清試料を対照として用いる。

	捕捉抗体	血清試料								
		ヒト血清	Cyno 1	Cyno 2	Cyno 3	Cyno 4	Cyno 5	Cyno 6	Cyno 7	Cyno 8
試験 1	E25	250	172	52	166	13	232	30	0	nd
	5.396.1 (組換え型)	385	30	0	27	0	37	3	0	nd
	5.396.1 (Hc-S103N Lc-K61R)	399	41	0	39	0	57	0	0	nd
	6.605.1 (組換え型)	397	120	91	107	0	140	0	0	nd
	6.605.1 (Hc-H3Q,M13K,D82E Lc-T25A,T53S)	437	133	103	122	0	173	19	0	nd
	5.948.1 (バッチ 2) (組換え型)	468	481	464	457	39	837	53	8	nd
試験 2	E25	319	146	104	135	14	252	28	0	25
	5.396.1 (Hc-S103N Lc-K61R)	357	57	39	53	0	102	0	0	0
	5.948.1 (バッチ 2) (組換え型)	431	289	328	309	38	630	62	0	56
	5.948.1 (Hc-H100Y)	408	170	199	178	25	420	39	0	36

【０３４２】

実施例17：本発明の抗体の配列リスト

（表２１）本発明の組換え型抗体のSEQ ID NO

			組換え型Ab					
配列識別子 SEQ ID NO			5.396.1	5.396.1 (Hc-S103N; Lc-K61R)	6.605.1	6.605.1 (Hc-H3Q,M13K,D82E; Lc-T25A,T53S)	5.948.1	5.948.1 (H100Y)
重鎖	完全長	DNA	1	21	41	61	81	121
		タンパク質	2	22	42	62	82	122
	可変ドメイン	DNA	3	23	43	63	83	123
		タンパク質	4	24	44	64	84	124
	CDR1	DNA	5	25	45	65	85	125
		タンパク質	6	26	46	66	86	126
	CDR2	DNA	7	27	47	67	87	127
		タンパク質	8	28	48	68	88	128
	CDR3	DNA	9	29	49	69	89	129
		タンパク質	10	30	50	70	90	130
軽鎖	完全長	DNA	11	31	51	71	91	131
		タンパク質	12	32	52	72	92	132
	可変ドメイン	DNA	13	33	53	73	93	133
		タンパク質	14	34	54	74	94	134
	CDR1	DNA	15	35	55	75	95	135
		タンパク質	16	36	56	76	96	136
	CDR2	DNA	17	37	57	77	97	137
		タンパク質	18	38	58	78	98	138
	CDR3	DNA	19	39	59	79	99	139
		タンパク質	20	40	60	80	100	140

【０３４３】

（表２２）本発明のモノクローナル抗体のSEQ ID NO

			ハイブリドーマからのmAb		
配列識別子 SEQ ID NO			5.396.1	6.605.1	5.948.1
重鎖	完全長	DNA	101	105	109
		タンパク質	102	106	110
軽鎖	完全長	DNA	103	107	111
		タンパク質	104	108	112

【０３４４】

以下の配列において、可変ドメインを大文字で示し、CDRを下線で示す。タンパク質配列は翻訳によって誘導する。全ての配列において、リーダー配列を省略した。

ハイブリドーマによって産生された5.396.1

ハイブリドーマからの5.396.1重鎖のヌクレオチド配列 = **SEQ ID NO: 101**

CAGGTGCAGCTACAGCAGTGGGGCGCAGGACTGTTGAAGCCTTCGGAGACCCTGTCCCTCACCTG
CGCTGTCTATGGTGGGTCCTTCAGTGGTTACTACTGGAGCTGGATCCGCCAGCCCCCAGGGAAGGG
GCTGGAGTGGATTGGGGAAATCCATCATAGTGGAAGCACCAACTACAACCCGTCCCTCAAGAGTCG
AGTCACCATATCAGTAGACACGTCCAAGAACCAGTTCTCCCTGAAGCTGAGCTCTGTGACCGCCGC
GGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGAGACAACTGGAACGACTCTTTCTACTACTACTACGGTATG
GACGTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGTCTCCTCAgcctccaccaagggcccatcggtcttccccctggcgccc
tgctccaggagcacctccgagagcacagcggccctgggctgcctggtcaaggactacttccccgaaccggtgacggtgtcgtggaactcaggcg
ctctgaccagcggcgtgcacaccttcccagctgtcctacagtcctcaggactctactccctcagcagcgtggtgaccgtgccctccagcaacttcggc
acccagacctacacctgcaacgtagatcacaagcccagcaacaccaaggtggacaagacagttgagcgcaaatgttgtgtcgagtgcccaccgt
gcccagcaccacctgtggcaggaccgtcagtcttcctcttcccccaaaacccaaggacaccctcatgatctcccggacccctgaggtcacgtgcg
tggtggtggacgtgagccacgaagaccccgaggtccagttcaactggtacgtggacggcgtggaggtgcataatgccaagacaaagccacggg
aggagcagttcaacagcacgttccgtgtggtcagcgtcctcaccgttgtgcaccaggactggctgaacggcaaggagtacaagtgcaaggtctcc
aacaaaggcctcccagcccccatcgagaaaaccatctccaaaaccaaagggcagccccgagaaccacaggtgtacaccctgcccccatcccg
ggaggagatgaccaagaaccaggtcagcctgacctgcctggtcaaaggcttctaccccagcgacatcgccgtggagtgggagagcaatgggca
gccggagaacaactacaagaccacacctcccatgctggactccgacggctccttcttcctctacagcaagctcaccgtggacaagagcaggtggc
agcaggggaacgtcttctcatgctccgtgatgcatgaggctctgcacaaccactacacgcagaagagcctctccctgtctccgggtaaa

ハイブリドーマからの5.396.1重鎖の誘導タンパク質配列 = **SEQ ID NO: 102**

QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLEWIGEIHHSGSTNYNPSLKSRVTI
SVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARDNWNDSFYYYYGMDVWGQGTTVTVSSastkgpsvfplapcsrstse
staalgclvkdyfpepvtvswnsgaltsgvhtfpavlqssglyslssvvtvpssnfgtqtytcnvdhkpsntkvdktverkccvecppcpappvagps
vflfppkpkdtlmisrtpevtcvvvdvshedpevqfnwyvdgvevhnaktkpreeqfnstfrvvsvltvvhqdwlngkeykckvsnkglpapiektis
ktkgqprepqvytlppsreemtknqvsltclvkgfypsdiavewesngqpennykttppmldsdgsfflyskltvdksrwqqgnvfscsvmhealh
nhytqkslslspgk

ハイブリドーマからの5.396.1軽鎖のヌクレオチド配列 = **SEQ ID NO: 103**

GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCATCACTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACAT
GTCGGGCGAGTCAGGGCATTAGCAATCATTTAGCCTGGTTTCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTA
AGTCCCTGATCTATGCTGCATCCAGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCAAAGTTCAGCGGCAGTGGATC
TGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATTTTGCAACTTATTACTGCCAAC
AGTATAATAGGCACCCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATCAAAcgaactgtggctgcaccatct
gtcttcatcttcccgccatctgatgagcagttgaaatctggaactgcctctgttgtgtgcctgctgaataacttctatcccagagaggccaaagtacagtg
gaaggtggataacgccctccaatcgggtaactcccaggagagtgtcacagagcaggacagcaaggacagcacctacagcctcagcagcaccc
tgacgctgagcaaagcagactacgagaaacacaaagtctacgcctgcgaagtcacccatcagggcctgagctcgcccgtcacaaagagcttca
acaggggagagtgt

ハイブリドーマからの5.396.1軽鎖の誘導タンパク質配列 = **SEQ ID NO: 104**

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISNHLAWFQQKPGKAPKSLIYAASSLQSGVPSKFSGSGSGTD
FTLTISSLQPEDFATYYCQQYNRHPFTFGPGTKVDIKrtvaapsvfifppsdeqlksgtasvvcllnnfypreakvqwkvdnalq
sgnsqesvteqdskdstyslssttltlskadyekhkvyacevthqglsspvtksfnrgec

ハイブリドーマによって産生された6.605.1

ハイブリドーマからの6.605.1重鎖のヌクレオチド配列 = **SEQ ID NO: 105**

CAGGTTCACCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGATGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGTCTCCTGC
AAGGCTTCTGGTTACACCTTTACCAGCTATGGTATCAGCTGGGTGCGACAGGCCCCTGGACAAGGG
CTTGAGTGGATGGGATGGATCAGCGCTTACAATGGTAACACAAACTATGCACAGAAGCTCCAGGGC
AGAATCACCATGACCACAGACACATCCACGAGCACAGCCTACATGGACCTGAGGAGCCTGAGATCT
GACGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGATGGGGATTACTATGATCCTTTTGACTACTGGGGCC
AGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCAgcctccaccaagggcccatcggtcttccccctggcgccctgctccaggagcacctccg
agagcacagcggccctgggctgcctggtcaaggactacttccccgaaccggtgacggtgtcgtggaactcaggcgctctgaccagcggcgtgca
caccttcccagctgtcctacagtcctcaggactctactccctcagcagcgtggtgaccgtgccctccagcaacttcggcacccagacctacacctgc
aacgtagatcacaagcccagcaacaccaaggtggacaagacagttgagcgcaaatgttgtgtcgagtgcccaccgtgcccagcaccacctgtg
gcaggaccgtcagtcttcctcttcccccaaaacccaaggacaccctcatgatctcccggacccctgaggtcacgtgcgtggtggtggacgtgagc
cacgaagaccccgaggtccagttcaactggtacgtggacggcgtggaggtgcataatgccaagacaaagccacgggaggagcagttcaacag
cacgttccgtgtggtcagcgtcctcaccgttgtgcaccaggactggctgaacggcaaggagtacaagtgcaaggtctccaacaaaggcctcccag
cccccatcgagaaaaccatctccaaaaccaaagggcagccccgagaaccacaggtgtacaccctgcccccatcccgggaggagatgaccaa
gaaccaggtcagcctgacctgcctggtcaaaggcttctaccccagcgacatcgccgtggagtgggagagcaatgggcagccggagaacaacta
caagaccacacctcccatgctggactccgacggctccttcttcctctacagcaagctcaccgtggacaagagcaggtggcagcaggggaacgtct
tctcatgctccgtgatgcatgaggctctgcacaaccactacacgcagaagagcctctccctgtctccgggtaaa

ハイブリドーマからの6.605.1重鎖の誘導タンパク質配列= **SEQ ID NO: 106**

QVHLVQSGAEVKMPGASVKVSCKASGYTFTSYGISWVRQAPGQGLEWMGWISAYNGNTNYAQKLQGR
ITMTTDTSTSTAYMDLRSLRSDDTAVYYCARDGDYYDPFDYWGQGTLVTVSSastkgpsvfplapcsrstsestaal
gclvkdyfpepvtvswnsgaltsgvhtfpavlqssglyslssvvtvpssnfgtqtytcnvdhkpsntkvdktverkccvecppcpappvagpsvflfp
pkpkdtlmisrtpevtcvvvdvshedpevqfnwyvdgvevhnaktkpreeqfnstfrvvsvltvvhqdwlngkeykckvsnkglpapiektisktkg
qprepqvytlppsreemtknqvsltclvkgfypsdiavewesngqpennyklttppmldsdgsfflyskltvdksrwqqgnvfscsvmhealhnhyt
qkslslspgk

ハイブリドーマからの6.605.1軽鎖のヌクレオチド配列= **SEQ ID NO: 107**

GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACTT
GCCGGACAAGTCAGAGTATTAGCAACTGGTTAAATTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAA
ACTCCTGATCTATGGTGCCTCCACTTTGAAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTCAGTGGCAGTGAATCT
GGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCAACTTACTACTGTCAACA
GAGTTACAGTACCCCTCCGACGTTCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAAATCAAAcgaactgtggctgcaccatct
gtcttcatcttcccgccatctgatgagcagttgaaatctggaactgcctctgttgtgtgcctgctgaataacttctatcccagagaggccaaagtacagtg
gaaggtggataacgccctccaatcgggtaactcccaggagagtgtcacagagcaggacagcaaggacagcacctacagcctcagcagcaccc
tgacgctgagcaaagcagactacgagaaacacaaagtctacgcctgcgaagtcacccatcagggcctgagctcgcccgtcacaaagagcttca
acaggggagagtgt

ハイブリドーマからの6.605.1軽鎖の誘導タンパク質配列= **SEQ ID NO: 108**

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRTSQSISNWLNWYQQKPGKAPKLLIYGASTLKSGVPSRFSGSESGTD
FTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPPTFGQGTKVEIKrtvaapsvfifppsdeqlksgtasvvcllnnfypreakvqwkvdnalq
sgnsqesvteqdskdstyslsstltlskadyekhkvyacevthqglsspvtksfnrgec

ハイブリドーマによって産生された5.948.1

ハイブリドーマからの5.948.1重鎖のヌクレオチド配列= **SEQ ID NO: 109**

CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGTCTCCTG
CAAGGCTTCTGGATACACCTTCACCAGTTATGATATCAACTGGGTGCGACAGGCCACTGGACAAGG
GCTTGAGTGGATGGGATGGATGGACCCTAACAGTGGTAACACAGGCTATGCACAGAAGTTCCAGGG
CAGAGTCACCATGACCAGGAACACCTCCATAAGCACAGCCTACATGGAGCTGAGCAGCCTGAGATC
TGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGGCCACTATGATAGTGATGGTTATTACTCCTTCTCC
GGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGTCTCCTCAgcctccaccaagggcccatcggtcttcccc
ctggcgccctgctccaggagcacctccgagagcacagcggccctgggctgcctggtcaaggactacttccccgaaccggtgacggtgtcgtgga
actcaggcgctctgaccagcggcgtgcacaccttcccagctgtcctacagtcctcaggactctactccctcagcagcgtggtgaccgtgccctccag
caacttcggcacccagacctacacctgcaacgtagatcacaagcccagcaacaccaaggtggacaagacagttgagcgcaaatgttgtgtcga
gtgcccaccgtgcccagcaccacctgtggcaggaccgtcagtcttcctcttcccccaaaacccaaggacaccctcatgatctcccggacccctga
ggtcacgtgcgtggtggtggacgtgagccacgaagaccccgaggtccagttcaactggtacgtggacggcgtggaggtgcataatgccaagaca
aagccacgggaggagcagttcaacagcacgttccgtgtggtcagcgtcctcaccgttgtgcaccaggactggctgaacggcaaggagtacaagt
gcaaggtctccaacaaaggcctcccagcccccatcgagaaaaccatctccaaaaccaaagggcagccccgagaaccacaggtgtacaccctg
cccccatcccgggaggagatgaccaagaaccaggtcagcctgacctgcctggtcaaaggcttctaccccagcgacatcgccgtggagtgggag
agcaatgggcagccggagaacaactacaagaccacacctcccatgctggactccgacggctccttcttcctctacagcaagctcaccgtggacaa
gagcaggtggcagcaggggaacgtcttctcatgctccgtgatgcatgaggctctgcacaaccactacacgcagaagagcctctccctgtctccggg
taaa

ハイブリドーマからの5.948.1重鎖の誘導タンパク質配列= **SEQ ID NO: 110**

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYDINWVRQATGQGLEWMGWMDPNSGNTGYAQKFQG
RVTMTRNTSISTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGHYDSDGYYSFSGMDVWGQGTTVTVSSastkgpsvfplap
csrstsestaalgclvkdyfpepvtvswnsgaltsgvhtfpavlqssglyslssvvtvpssnfgtqtytcnvdhkpsntkvdktverkccvecppcpap
pvagpsvflfppkpkdtlmisrtpevtcvvvdvshedpevqfnwyvdgvevhnaktkpreeqfnstfrvvsvltvvhqdwlngkeykckvsnkglp
apiektisktkgqprepqvytlppsreemtknqvsltclvkgfypsdiavewesngqpennyklttppmldsdgsfflyskltvdksrwqqgnvfscsv
mhealhnhytqkslslspgk

ハイブリドーマからの5.948.1軽鎖のヌクレオチド配列= **SEQ ID NO: 111**

GATATTGTGATGACTCAGTCTCCACTCTCCCTGCCCGTCACCCCTGGAGAGCCGGCCTCCATCTCCT
GTAGGTCTAGTCAGAGCCTCCTGCATAGGAATGGATACAACTACTTGGATTGGTACCTGCAGAAGCC
AGGGCAGTCTCCACAGCTCCTGATCTATTTGGGTTCTAATCGGGCCTCCGGGGTCCCTGACAGGTT
CAGTGGCAGTGGATCAGGCACAGATTTTACACTGAAAATCAGCAGAGTGGAGGCTGAGGATGTTGG
GGTTTATTACTGCATGCAAGCTCTACAAACTCCTCCGGCCACTTTCGGCGGAGGGACCAAGGTGGA
GATCAAAcgaactgtggctgcaccatctgtcttcatcttcccgccatctgatgagcagttgaaatctggaactgcctctgttgtgtgcctgctgaataa
cttctatcccagagaggccaaagtacagtggaaggtggataacgccctccaatcgggtaactcccaggagagtgtcacagagcaggacagcaa
ggacagcacctacagcctcagcagcaccctgacgctgagcaaagcagactacgagaaacacaaagtctacgcctgcgaagtcacccatcagg
gcctgagctcgcccgtcacaaagagcttcaacaggggagagtgt

ハイブリドーマからの5.948.1軽鎖の誘導タンパク質配列 = **SEQ ID NO: 112**

DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLLHRNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPDRFSGS
GSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPPATFGGGTKVEIKrtvaapsvfifppsdeqlksgtasvvcllnnfypreakv
qwkvdnalqsgnsqesvteqdskdstyslsstltlskadyekhkvyacevthqglsspvtksfnrgec

組換え型 5.396.1

組換え型5.396.1重鎖のヌクレオチド配列 = **SEQ ID NO: 1**

CAGGTGCAGCTACAGCAGTGGGGCGCAGGACTGTTGAAGCCTTCGGAGACCCTGTCCCTCACCTG
CGCTGTCTATGGTGGGTCCTTCAGTGGTTACTACTGGAGCTGGATCCGCCAGCCCCCAGGGAAGGG
GCTGGAGTGGATTGGGGAAATCCATCATAGTGGAAGCACCAACTACAACCCGTCCCTCAAGAGTCG
AGTCACCATATCAGTAGACACGTCCAAGAACCAGTTCTCCCTGAAGCTGAGCTCTGTGACCGCCGC
GGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGAGACAACTGGAACGACTCTTTCTACTACTACTACGGTATG
GACGTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGTCTCCTCAgcctccaccaagggcccatcggtcttccccctggcgccc
tgctccaggagcacctccgagagcacagcggccctgggctgcctggtcaaggactacttccccgaaccggtgacggtgtcgtggaactcaggcg
ctctgaccagcggcgtgcacaccttcccggctgtcctacagtcctcaggactctactccctcagcagcgtagtgaccgtgccctccagcaacttcggc
acccagacctacacctgcaacgtagatcacaagcccagcaacaccaaggtggacaagacagttgagcgcaaatgttgtgtcgagtgcccaccgt
gcccagcaccacctgtggcaggaccgtcagtcttcctcttccccccaaaacccaaggacaccctcatgatctcccggacccctgaggtcacgtgcg
tggtggtggacgtgagccacgaagaccccgaggtccagttcaactggtacgtggacggcgtggaggtgcataatgccaagacaaagccacgggg
aggagcagttcaacagcacgttccgtgtggtcagcgtcctcaccgtcgtgcaccaggactggctgaacggcaaggagtacaagtgcaaggtctcc
aacaaaggcctcccagcccccatcgagaaaaccatctccaaaaccaaagggcagccccgagaaccacaggtgtacaccctgcccccatcccg
ggaggagatgaccaagaaccaggtcagcctgacctgcctggtcaaaggcttctaccccagcgacatcgccgtggagtgggagagcaatgggca
gccggagaacaactacaagaccacacctcccatgctggactccgacggctccttcttcctctacagcaagctcaccgtggacaagagcaggtggc
agcaggggaacgtcttctcatgctccgtgatgcatgaggctctgcacaaccactacacacagaagagcctctccctgtctccgggtaaa

組換え型5.396.1重鎖の誘導タンパク質配列 = **SEQ ID NO: 2**

QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLEWIGEIHHSGSTNYNPSLKSRVTI
SVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARDNWNDSFYYYYGMDVWGQGTTVTVSSastkgpsvfplapcsrstse
staalgclvkdyfpepvtvswnsgaltsgvhtfpavlqssglyslssvvtvpssnfgtqtytcnvdhkpsntkvdktverkccvecppcpappvagps
vflfppkpkdtlmisrtpevtcvvvdvshedpevqfnwyvdgvevhnaktkpreeqfnstfrvvsvltvvhqdwlngkeykckvsnkglpapiektis
ktkgqprepqvytlppsreemtknqvsltclvkgfypsdiavewesngqpennykttppmldsdgsfflyskltvdksrwqqgnvfscsvmhealh
nhytqkslslspgk

組換え型5.396.1軽鎖のヌクレオチド配列 = **SEQ ID NO: 11**

GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCATCACTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACAT
GTCGGGCGAGTCAGGGCATTAGCAATCATTTAGCCTGGTTTCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTA
AGTCCCTGATCTATGCTGCATCCAGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCAAAGTTCAGCGGCAGTGGATC
TGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATTTTGCAACTTATTACTGCCAAC
AGTATAATAGGCACCCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATCAAAcgaactgtggctgcaccatct
gtcttcatcttcccgccatctgatgagcagttgaaatctggaactgcctctgttgtgtgcctgctgaataacttctatcccagagaggccaaagtacagtg
gaaggtggataacgccctccaatcgggtaactcccaggagagtgtcacagagcaggacagcaaggacagcacctacagcctcagcagcaccc
tgacgctgagcaaagcagactacgagaaacacaaagtctacgcctgcgaagtcacccatcagggcctgagctcgcccgtcacaaagagcttca
acaggggagagtgt

組換え型5.396.1軽鎖の誘導タンパク質配列 = **SEQ ID NO: 12**

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISNHLAWFQQKPGKAPKSLIYAASSLQSGVPSKFSGSGSGTD
FTLTISSLQPEDFATYYCQQYNRHPFTFGPGTKVDIKrtvaapsvfifppsdeqlksgtasvvcllnnfypreakvqwkvdnalq
sgnsqesvteqdskdstyslsstltlskadyekhkvyacevthqglsspvtksfnrgec

組換え型 (Hc-S103N Lc-K61R)

組換え型5.396.1(S103N)重鎖のヌクレオチド配列 = SEQ ID NO: 21

CAGGTGCAGCTACAGCAGTGGGGCGCAGGACTGTTGAAGCCTTCGGAGACCCTGTCCCTCACCTG
CGCTGTCTATGGTGGGTCCTTCAGTGGTTACTACTGGAGCTGGATCCGCCAGCCCCCAGGGAAGGG
GCTGGAGTGGATTGGGGAAATCCATCATAGTGGAAGCACCAACTACAACCCGTCCCTCAAGAGTCG
AGTCACCATATCAGTAGACACGTCCAAGAACCAGTTCTCCCTGAAGCTGAGCTCTGTGACCGCCGC
GGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGAGACAACTGGAACGACAACTTCTACTACTACTACGGTATG
GACGTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGTCTCCTCAgcctccaccaagggcccatcggtcttccccctggcgccc
tgctccaggagcacctccgagagcacagcggccctgggctgcctggtcaaggactacttccccgaaccggtgacggtgtcgtggaactcaggcg
ctctgaccagcggcgtgcacaccttcccggctgtcctacagtcctcaggactctactccctcagcagcgtagtgaccgtgccctccagcaacttcggc
acccagacctacacctgcaacgtagatcacaagcccagcaacaccaaggtggacaagacagttgagcgcaaatgttgtgtcgagtgcccaccgt
gcccagcaccacctgtggcaggaccgtcagtcttcctcttcccccaaaacccaaggacaccctcatgatctcccggaccctgaggtcacgtgcg
tggtggtggacgtgagccacgaagaccccgaggtccagttcaactggtacgtggacggcgtggaggtgcataatgccaagacaaagccacggg
aggagcagttcaacagcacgttccgtgtggtcagcgtcctcaccgtcgtgcaccaggactggctgaacggcaaggagtacaagtgcaaggtctcc
aacaaaggcctcccagcccccatcgagaaaaccatctccaaaaccaaagggcagccccgagaaccacaggtgtacaccctgcccccatcccg
ggaggagatgaccaagaaccaggtcagcctgacctgcctggtcaaaggcttctaccccagcgacatcgccgtggagtgggagagcaatgggca
gccggagaacaactacaagaccacacctcccatgctggactccgacggctccttcttcctctacagcaagctcaccgtggacaagagcaggtggc
agcaggggaacgtcttctcatgctccgtgatgcatgaggctctgcacaaccactacacacagaagagcctctccctgtctccgggtaaa

組換え型5.396.1(S103N)重鎖の誘導タンパク質配列 = SEQ ID NO: 22

QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLEWIGEIHHSGSTNYNPSLKSRVTI
SVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARDNWNDNFYYYYGMDVWGQGTTVTVSSastkgpsvfplapcsrstse
staalgclvkdyfpepvtvswnsgaltsgvhtfpavlqssglyslssvvtvpssnfgtqtytcnvdhkpsntkvdktverkccvecppcpappvagps
vflfppkpkdtlmisrtpevtcvvvdvshedpevqfnwyvdgvevhnaktkpreeqfnstfrvvsvltvvhqdwlngkeykckvsnkglpapiektis
ktkgqprepqvytlppsreemtknqvsltclvkgfypsdiavewesngqpennykttppmldsdgsfflyskltvdksrwqqgnvfscsvmhealh
nhytqkslslspgk

組換え型5.396.1(K61R)軽鎖のヌクレオチド配列 = SEQ ID NO: 31

GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCATCACTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACAT
GTCGGGCGAGTCAGGGCATTAGCAATCATTTAGCCTGGTTTCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTA
AGTCCCTGATCTATGCTGCATCCAGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTCAGCGGCAGTGGATC
TGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATTTTGCAACTTATTACTGCCAAC
AGTATAATAGGCACCCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATCAAAcgaactgtggctgcaccatct
gtcttcatcttcccgccatctgatgagcagttgaaatctggaactgcctctgttgtgtgcctgctgaataacttctatcccagagaggccaaagtacagtg
gaaggtggataacgccctccaatcgggtaactcccaggagagtgtcacagagcaggacagcaaggacagcacctacagcctcagcagcaccc
tgacgctgagcaaagcagactacgagaaacacaaagtctacgcctgcgaagtcacccatcagggcctgagctcgcccgtcacaaagagcttca
acaggggagagtgt

組換え型5.396.1(K61R)軽鎖の誘導タンパク質配列 = SEQ ID NO: 32

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISNHLAWFQQKPGKAPKSLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTD
FTLTISSLQPEDFATYYCQQYNRHPFTFGPGTKVDIKrtvaapsvfifppsdeqlksgtasvvcllnnfypreakvqwkvdnalq
sgnsqesvteqdskdstyslssttltlskadyekhkvyacevthqglsspvtksfnrgec

組換え型 6.605.1

組換え型6.605.1重鎖のヌクレオチド配列 = SEQ ID NO: 41

CAGGTTCACCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGATGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGTCTCCTGC
AAGGCTTCTGGTTACACCTTTACCAGCTATGGTATCAGCTGGGTGCGACAGGCCCCTGGACAAGGG
CTTGAGTGGATGGGATGGATCAGCGCTTACAATGGTAACACAAACTATGCACAGAAGCTCCAGGGC
AGAATCACCATGACCACAGACACATCCACGAGCACAGCCTACATGGACCTGAGGAGCCTGAGATCT
GACGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGATGGGGATTACTATGATCCTTTTGACTACTGGGGCC
AGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCAgcctccaccaagggcccatcggtcttccccctggcgccctgctccaggagcacctccg
agagcacagcggccctgggctgcctggtcaaggactacttccccgaaccggtgacggtgtcgtggaactcaggcgctctgaccagcggcgtgca
caccttcccggctgtcctacagtcctcaggactctactccctcagcagcgtagtgaccgtgccctccagcaacttcggcacccagacctacacctgc
aacgtagatcacaagcccagcaacaccaaggtggacaagacagttgagcgcaaatgttgtgtcgagtgcccaccgtgcccagcaccacctgtg
gcaggaccgtcagtcttcctcttcccccaaaacccaaggacaccctcatgatctcccggaccctgaggtcacgtgcgtggtggtggacgtgagc
cacgaagaccccgaggtccagttcaactggtacgtggacggcgtggaggtgcataatgccaagacaaagccacgggaggagcagttcaacag
cacgttccgtgtggtcagcgtcctcaccgtcgtgcaccaggactggctgaacggcaaggagtacaagtgcaaggtctccaacaaaggcctcccag
ccccatcgagaaaaccatctccaaaaccaaagggcagccccgagaaccacaggtgtacaccctgcccccatcccgggaggagatgaccaa
gaaccaggtcagcctgacctgcctggtcaaaggcttctaccccagcgacatcgccgtggagtgggagagcaatgggcagccggagaacaacta
caagaccacacctcccatgctggactccgacggctccttcttcctctacagcaagctcaccgtggacaagagcaggtggcagcaggggaacgtct
tctcatgctccgtgatgcatgaggctctgcacaaccactacacacagaagagcctctccctgtctccgggtaaa

組換え型6.605.1重鎖の誘導タンパク質配列 = **SEQ ID NO: 42**

QVHLVQSGAEVKMPGASVKVSCKASGYTFTSYGISWVRQAPGQGLEWMGWISAYNGNTNYAQKLQGR
ITMTTDTSTSTAYMDLRSLRSDDTAVYYCARDGDYYDPFDYWGQGTLVTVSSastkgpsvfplapcsrstsestaal
gclvkdyfpepvtvswnsgaltsgvhtfpavlqssglyslssvvtvpssnfgtqtytcnvdhkpsntkvdktverkccvecppcpappvagpsvflfp
pkpkdtlmisrtpevtcvvvdvshedpevqfnwyvdgvevhnaktkpreeqfnstfrvvsvltvvhqdwlngkeykckvsnkglpapiektisktkg
qprepqvytlppsreemtknqvsltclvkgfypsdiavewesngqpennykttppmldsdgsfflyskltvdksrwqqgnvfscsvmhealhnhyt
qkslslspgk

組換え型6.605.1軽鎖のヌクレオチド配列 = **SEQ ID NO: 51**

GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACTT
GCCGGACAAGTCAGAGTATTAGCAACTGGTTAAATTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAA
ACTCCTGATCTATGGTGCCTCCACTTTGAAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTCAGTGGCAGTGAATCT
GGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCAACTTACTACTGTCAACA
GAGTTACAGTACCCCTCCGACGTTCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAAATCAAAcgaactgtggctgcaccatct
gtcttcatcttcccgccatctgatgagcagttgaaatctggaactgcctctgttgtgtgcctgctgaataacttctatcccagagaggccaaagtacagtg
gaaggtggataacgccctccaatcgggtaactcccaggagagtgtcacagagcaggacagcaaggacagcacctacagcctcagcagcaccc
tgacgctgagcaaagcagactacgagaaacacaaagtctacgcctgcgaagtcacccatcagggcctgagctcgcccgtcacaaagagcttca
acaggggagagtgt

組換え型6.605.1軽鎖の誘導タンパク質配列 = **SEQ ID NO: 52**

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRTSQSISNWLNWYQQKPGKAPKLLIYGASTLKSGVPSRFSGSESGTD
FTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPPTFGQGTKVEIKrtvaapsvfifppsdeqlksgtasvvcllnnfypreakvqwkvdnalq
sgnsqesvteqdskdstyslsstltlskadyekhkvyacevthqglsspvtksfnrgec

組換え型 6.605.1 (Hc- H3Q,M13K,D82E Lc- T25A,T53S)

組換え型6.605.1(H3Q, M13K, D82E)重鎖のヌクレオチド配列 = **SEQ ID NO: 61**

CAGGTCCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGTCTCCTG
CAAGGCTTCTGGTTACACCTTTACCAGCTATGGTATCAGCTGGGTGCGACAGGCCCCTGGACAAGG
GCTTGAGTGGATGGGATGGATCAGCGCTTACAATGGTAACACAAACTATGCACAGAAGCTCCAGGG
CAGAATCACCATGACCACAGACACATCCACGAGCACAGCCTACATGGAACTGAGGAGCCTGAGATC
TGACGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGATGGGGATTACTATGATCCTTTTGACTACTGGGGC
CAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCAgcctccaccaagggcccatcggtcttcccctggcgccctgctccaggagcacctcc
gagagcacagcggccctgggctgcctggtcaaggactacttccccgaaccggtgacggtgtcgtggaactcaggcgctctgaccagcggcgtgc
acaccttcccggctgtcctacagtcctcaggactctactccctcagcagcgtagtgaccgtgccctccagcaacttcggcacccagacctacacctg
caacgtagatcacaagcccagcaacaccaaggtggacaagacagttgagcgcaaatgttgtgtcgagtgcccaccgtgcccagcaccacctgtg
gcaggaccgtcagtcttcctcttcccccaaaacccaaggacaccctcatgatctcccggaccctgaggtcacgtgcgtggtggtggacgtgagc
cacgaagaccccgaggtccagttcaactggtacgtggacggcgtggaggtgcataatgccaagacaaagccacgggaggagcagttcaacag
cacgttccgtgtggtcagcgtcctcaccgtcgtgcaccaggactggctgaacggcaaggagtacaagtgcaaggtctccaacaaaggcctcccag
cccccatcgagaaaaccatctccaaaaccaaagggcagccccgagaaccacaggtgtacaccctgcccccatcccgggaggagatgaccaa
gaaccaggtcagcctgacctgcctggtcaaaggcttctaccccagcgacatcgccgtggagtgggagagcaatgggcagccggagaacaacta
caagaccacacctcccatgctggactccgacggctccttcttcctctacagcaagctcaccgtggacaagagcaggtggcagcaggggaacgtct
tctcatgctccgtgatgcatgaggctctgcacaaccactacacacagaagagcctctccctgtctccgggtaaa

組換え型6.605.1(H3Q, M13K, D82E)重鎖の誘導タンパク質配列 = **SEQ ID NO: 62**

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYGISWVRQAPGQGLEWMGWISAYNGNTNYAQKLQGR
ITMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDGDYYDPFDYWGQGTLVTVSSastkgpsvfplapcsrstsestaal
gclvkdyfpepvtvswnsgaltsgvhtfpavlqssglyslssvvtvpssnfgtqtytcnvdhkpsntkvdktverkccvecppcpappvagpsvflfp
pkpkdtlmisrtpevtcvvvdvshedpevqfnwyvdgvevhnaktkpreeqfnstfrvvsvltvvhqdwlngkeykckvsnkglpapiektisktkg
qprepqvytlppsreemtknqvsltclvkgfypsdiavewesngqpennykttppmldsdgsfflyskltvdksrwqqgnvfscsvmhealhnhyt
qkslslspgk

組換え型6.605.1(T25A, T53S)軽鎖のヌクレオチド配列 = **SEQ ID NO: 71**

GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACTT
GCCGGGCAAGTCAGAGTATTAGCAACTGGTTAAATTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAA
ACTCCTGATCTATGGTGCCTCCAGTTTGAAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTCAGTGGCAGTGAATCT
GGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCAACTTACTACTGTCAACA
GAGTTACAGTACCCCTCCGACGTTCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAAATCAAAcgaactgtggctgcaccatct
gtcttcatcttcccgccatctgatgagcagttgaaatctggaactgcctctgttgtgtgcctgctgaataacttctatcccagagaggccaaagtacagtg
gaaggtggataacgccctccaatcgggtaactcccaggagagtgtcacagagcaggacagcaaggacagcacctacagcctcagcagcaccc
tgacgctgagcaaagcagactacgagaaacacaaagtctacgcctgcgaagtcacccatcagggcctgagctcgcccgtcacaaagagcttca
acaggggagagtgt

組換え型6.605.1(T25A, T53S)軽鎖の誘導タンパク質配列 = SEQ ID NO: 72
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISNWLNWYQQKPGKAPKLLIYGASSLKSGVPSRFSGSESGT
DFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPPTFGQGTKVEIKrtvaapsvfifppsdeqlksgtasvvcllnnfypreakvqwkvdnal
qsgnsqesvteqdskdstyslsstltlskadyekhkvyacevthqglsspvtksfnrgec

組換え型 5.948.1

組換え型5.948.1重鎖のヌクレオチド配列 = SEQ ID NO: 81
CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGTCTCCTG
CAAGGCTTCTGGATACACCTTCACCAGTTATGATATCAACTGGGTGCGACAGGCCACTGGACAAGG
GCTTGAGTGGATGGGATGGATGGACCCTAACAGTGGTAACACAGGCTATGCACAGAAGTTCCAGGG
CAGAGTCACCATGACCAGGAACACCTCCATAAGCACAGCCTACATGGAGCTGAGCAGCCTGAGATC
TGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGGCCACTATGATAGTGATGGTTATTACTCCTTCTCC
GGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGTCTCCTCAgcctccaccaagggcccatcggtcttcccc
ctggcgccctgctccaggagcacctccgagagcacagcggccctgggctgcctggtcaaggactacttccccgaaccggtgacggtgtcgtgga
actcaggcgctctgaccagcggcgtgcacaccttcccggctgtcctacagtcctcaggactctactccctcagcagcgtagtgaccgtgccctccag
caacttcggcacccagacctacacctgcaacgtagatcacaagcccagcaacaccaaggtggacaagacagttgagcgcaaatgttgtgtcga
gtgcccaccgtgcccagcaccacctgtggcaggaccgtcagtcttcctcttcccccaaaacccaaggacaccctcatgatctcccggacccctga
ggtcacgtgcgtggtggtggacgtgagccacgaagaccccgaggtccagttcaactggtacgtggacggcgtggaggtgcataatgccaagaca
aagccacgggaggagcagttcaacagcacgttccgtgtggtcagcgtcctcaccgtcgtgcaccaggactggctgaacggcaaggagtacaagt
gcaaggtctccaacaaaggcctcccagcccccatcgagaaaaccatctccaaaaccaaagggcagccccgagaaccacaggtgtacaccctg
cccccatcccgggaggagatgaccaagaaccaggtcagcctgacctgcctggtcaaaggcttctaccccagcgacatcgccgtggagtgggag
agcaatgggcagccggagaacaactacaagaccacacctcccatgctggactccgacggctccttcttcctctacagcaagctcaccgtggacaa
gagcaggtggcagcaggggaacgtcttctcatgctccgtgatgcatgaggctctgcacaaccactacacacagaagagcctctccctgtctccggg
taaa
組換え型5.948.1重鎖の誘導タンパク質配列 = SEQ ID NO: 82
QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYDINWVRQATGQGLEWMGWMDPNSGNTGYAQKFQG
RVTMTRNTSISTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGHYDSDGYYSFSGMDVWGQGTTVTVSSastkgpsvfplap
csrstsestaalgclvkdyfpepvtvswnsgaltsgvhtfpavlqssglyslssvvtvpssnfgtqtytcnvdhkpsntkvdktverkccvecppcpap
pvagpsvflfppkpkdtlmisrtpevtcvvvdvshedpevqfnwyvdgvevhnaktkpreeqfnstfrvvsvltvvhqdwlngkeykckvsnkglp
apiektisktkgqprepqvytlppsreemtknqvsltclvkgfypsdiavewesngqpennykttppmldsdgsfflyskltvdksrwqqgnvfscsv
mhealhnhytqkslslspgk
組換え型5.948.1軽鎖のヌクレオチド配列 = SEQ ID NO: 91
GATATTGTGATGACTCAGTCTCCACTCTCCCTGCCCGTCACCCCTGGAGAGCCGGCCTCCATCTCCT
GTAGGTCTAGTCAGAGCCTCCTGCATAGGAATGGATACAACTACTTGGATTGGTACCTGCAGAAGCC
AGGGCAGTCTCCACAGCTCCTGATCTATTTGGGTTCTAATCGGGCCTCCGGGGTCCCTGACAGGTT
CAGTGGCAGTGGATCAGGCACAGATTTTACACTGAAAATCAGCAGAGTGGAGGCTGAGGATGTTGG
GGTTTATTACTGCATGCAAGCTCTACAAACTCCTCCGGCCACTTTCGGCGGAGGGACCAAGGTGGA
GATCAAAcgaactgtggctgcaccatctgtcttcatcttcccgccatctgatgagcagttgaaatctggaactgcctctgttgtgtgcctgctgaataa
cttctatcccagagaggccaaagtacagtggaaggtggataacgccctccaatcgggtaactcccaggagagtgtcacagagcaggacagcaa
ggacagcacctacagcctcagcagcaccctgacgctgagcaaagcagactacgagaaacacaaagtctacgcctgcgaagtcacccatcagg
gcctgagctcgcccgtcacaaagagcttcaacaggggagagtgt
組換え型5.948.1軽鎖の誘導タンパク質配列 = SEQ ID NO: 92
DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLLHRNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPDRFSGS
GSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPPATFGGGTKVEIKrtvaapsvfifppsdeqlksgtasvvcllnnfypreakv
qwkvdnalqsgnsqesvteqdskdstyslsstltlskadyekhkvyacevthqglsspvtksfnrgec

組換え型 5.948.1 (H100Y)

組換え型5.948.1重鎖のヌクレオチド配列 = SEQ ID NO: 121
CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGTCTCCTG
CAAGGCTTCTGGATACACCTTCACCAGTTATGATATCAACTGGGTGCGACAGGCCACTGGACAAGG
GCTTGAGTGGATGGGATGGATGGACCCTAACAGTGGTAACACAGGCTATGCACAGAAGTTCCAGGG
CAGAGTCACCATGACCAGGAACACCTCCATAAGCACAGCCTACATGGAGCTGAGCAGCCTGAGATC
TGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGGCTACTATGATAGTGATGGTTATTACTCCTTCTCC
GGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGTCTCCTCAgcctccaccaagggcccatcggtcttcccc
ctggcgccctgctccaggagcacctccgagagcacagcggccctgggctgcctggtcaaggactacttccccgaaccggtgacggtgtcgtgga
actcaggcgctctgaccagcggcgtg
cacaccttcccggctgtcctacagtcctcaggactctactccctcagcagcgtagtgaccgtgccctccagcaacttcggcacccagacctacacct
gcaacgtagatcacaagcccagcaacaccaaggtggacaagacagttgagcgcaaatgttgtgtcgagtgcccaccgtgcccagcaccacctgt
ggcaggaccgtcagtcttcctcttcccccaaaacccaaggacaccctcatgatctccc

ggacccctgaggtcacgtgcgtggtggtggacgtgagccacgaagaccccgaggtccagttcaactggtacgtggacggcgtggaggtgcataa
tgccaagacaaagccacgggaggagcagttcaacagcacgttccgtgtggtcagcgtcctcaccgtcgtgcaccaggactggctgaacggcaa
ggagtacaagtgcaaggtctccaacaaaggcctcccagcccccatcgagaaaaccatctccaaaaccaaagggcagccccgagaaccacag
gtgtacaccctgcccccatcccgggaggagatgaccaagaaccaggtcagcctgacctgcctggtcaaaggcttctaccccagcgacatcgccgt
ggagtgggagagcaatgggcagccggagaacaactacaagaccacacctcccatgctggactccgacggctccttcttcctctacagcaagctc
accgtggacaagagcaggtggcagcaggggaacgtcttctcatgctccgtgatgcatgaggctctgcacaaccactacacacagaagagcctct
ccctgtctccgggtaaa

組換え型5.948.1重鎖の誘導タンパク質配列 = **SEQ ID NO: 122**

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYDINWVRQATGQGLEWMGWMDPNSGNTGYAQKFQG
RVTMTRNTSISTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGYYDSDGYYSFSGMDVWGQGTTVTVSSastkgpsvfplap
csrstsestaalgclvkdyfpepvtvswnsgaltsgvhtfpavlqssglyslssvvtvpssnfgtqtytcnvdhkpsntkvdktverkccvecppcpap
pvagpsvflfppkpkdtlmisrtpevtcvvvdvshedpevqfnwyvdgvevhnaktkpreeqfnstfrvvsvltvvhqdwlngkeykckvsnkglp
apiektisktkgqprepqvytlppsreemtknqvsltclvkgfypsdiavewesngqpennykttppmldsdgsfflyskltvdksrwqqgnvfscsv
mhealhnhytqkslslspgk

組換え型5.948.1軽鎖のヌクレオチド配列 = **SEQ ID NO: 131**

GATATTGTGATGACTCAGTCTCCACTCTCCCTGCCCGTCACCCCTGGAGAGCCGGCCTCCATCTCCT
GTAGGTCTAGTCAGAGCCTCCTGCATAGGAATGGATACAACTACTTGGATTGGTACCTGCAGAAGCC
AGGGCAGTCTCCACAGCTCCTGATCTATTTGGGTTCTAATCGGGCCTCCGGGGTCCCTGACAGGTT
CAGTGGCAGTGGATCAGGCACAGATTTTACACTGAAAATCAGCAGAGTGGAGGCTGAGGATGTTGG
GGTTTATTACTGCATGCAAGCTCTACAAACTCCTCCGGCCACTTTCGGCGGAGGGACCAAGGTGGA
GATCAAAcgaactgtggctgcaccatctgtcttcatcttcccgccatctgatgagcagttgaaatctggaactgcctctgttgtgtgcctgctgaataa
cttctatcccagagaggccaaagtacagtggaaggtggataacgccctccaatcgggtaactcccaggagagtgtcacagagcaggacagcaa
ggacagcacctacagcctcagcagcaccctgacgctgagcaaagcagactacgagaaacacaaagtctacgcctgcgaagtcacccatcagg
gcctgagctcgcccgtcacaaagagcttcaacaggggagagtgt

組換え型5.948.1軽鎖の誘導タンパク質配列 = **SEQ ID NO: 132**

DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLLHRNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPDRFSGS
GSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPPATFGGGTKVEIKrtvaapsvfifppsdeqlksgtasvvcllnnfypreakv
qwkvdnalqsgnsqesvteqdskdstyslsstltlskadyekhkvyacevthqglsspvtksfnrgec

配列の完全なリスト

SEQ ID NO 1: 組換え型 **5.396.1** - 完全長の重鎖ヌクレオチド配列

CAGGTGCAGCTACAGCAGTGGGGCGCAGGACTGTTGAAGCCTTCGGAGACCCTGTCCCTCACCTG
CGCTGTCTATGGTGGGTCCTTCAGTGGTTACTACTGGAGCTGGATCCGCCAGCCCCCAGGGAAGGG
GCTGGAGTGGATTGGGGAAATCCATCATAGTGGAAGCACCAACTACAACCCGTCCCTCAAGAGTCG
AGTCACCATATCAGTAGACACGTCCAAGAACCAGTTCTCCCTGAAGCTGAGCTCTGTGACCGCCGC
GGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGAGACAACTGGAACGACTCTTTCTACTACTACTACGGTATG
GACGTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGTCTCCTCAgcctccaccaagggcccatcggtcttcccctggcgccc
tgctccaggagcacctccgagagcacagcggccctgggctgcctggtcaaggactacttccccgaaccggtgacggtgtcgtggaactcaggcg
ctctgaccagcggcgtgcacaccttcccggctgtcctacagtcctcaggactctactccctcagcagcgtagtgaccgtgccctccagcaacttcggc
acccagacctacacctgcaacgtagatcacaagcccagcaacaccaaggtggacaagacagttgagcgcaaatgttgtgtcgagtgcccaccgt
gcccagcaccacctgtggcaggaccgtcagtcttcctcttcccccaaaacccaaggacaccctcatgatctcccggaccctgaggtcacgtgcg
tggtggtggacgtgagccacgaagaccccgaggtccagttcaactggtacgtggacggcgtggaggtgcataatgccaagacaaagccacggg
aggagcagttcaacagcacgttccgtgtggtcagcgtcctcaccgtcgtgcaccaggactggctgaacggcaaggagtacaagtgcaaggtctcc
aacaaaggcctcccagcccccatcgagaaaaccatctccaaaaccaaagggcagccccgagaaccacaggtgtacaccctgcccccatcccg
ggaggagatgaccaagaaccaggtcagcctgacctgcctggtcaaaggcttctaccccagcgacatcgccgtggagtgggagagcaatgggca
gccggagaacaactacaagaccacacctcccatgctggactccgacggctccttcttcctctacagcaagctcaccgtggacaagagcaggtggc
agcaggggaacgtcttctcatgctccgtgatgcatgaggctctgcacaaccactacacacagaagagcctctccctgtctccgggtaaa

SEQ ID NO 2: 組換え型 **5.396.1** - 完全長の重鎖予測アミノ酸配列

QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLEWIGEIHHSGSTNYNPSLKSRVTI
SVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARDNWNDSFYYYYGMDVWGQGTTVTVSSastkgpsvfplapcsrstse
staalgclvkdyfpepvtvswnsgaltsgvhtfpavlqssglyslssvvtvpssnfgtqtytcnvdhkpsntkvdktverkccvecppcpappvagps
vflfppkpkdtlmisrtpevtcvvvdvshedpevqfnwyvdgvevhnaktkpreeqfnstfrvvsvltvvhqdwlngkeykckvsnkglpapiektis
ktkgqprepqvytlppsreemtknqvsltclvkgfypsdiavewesngqpennykttppmldsdgsfflyskltvdksrwqqgnvfscsvmhealh
nhytqkslslspgk

SEQ ID NO 3: 組換え型 **5.396.1** - 重鎖可変ドメインヌクレオチド配列
CAGGTGCAGCTACAGCAGTGGGGCGCAGGACTGTTGAAGCCTTCGGAGACCCTGTCCCTCACCTG
CGCTGTCTATGGTGGGTCCTTCAGTGGTTACTACTGGAGCTGGATCCGCCAGCCCCCAGGGAAGGG
GCTGGAGTGGATTGGGGAAATCCATCATAGTGGAAGCACCAACTACAACCCGTCCCTCAAGAGTCG
AGTCACCATATCAGTAGACACGTCCAAGAACCAGTTCTCCCTGAAGCTGAGCTCTGTGACCGCCGC
GGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGAGACAACTGGAACGACTCTTTCTACTACTACTACGGTATG
GACGTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGTCTCCTCA

SEQ ID NO 4: 組換え型 **5.396.1** - 予測重鎖可変ドメインアミノ酸配列

QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLEWIGEIHHSGSTNYNPSLKSRVTI
SVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARDNWNDSFYYYYGMDVWGQGTTVTVSS

SEQ ID NO 5: 組換え型 **5.396.1** - 重鎖CDR1ヌクレオチド配列
GGTTACTACTGGAGC

SEQ ID NO 6: 組換え型 **5.396.1** - 予測重鎖CDR1アミノ酸配列
GYYWS

SEQ ID NO 7: 組換え型 **5.396.1** - 重鎖CDR2ヌクレオチド配列
GAAATCCATCATAGTGGAAGCACCAACTACAACCCGTCCCTCAAGAGT

SEQ ID NO 8: 組換え型 **5.396.1** - 予測重鎖CDR2アミノ酸配列
EIHHSGSTNYNPSLKS

SEQ ID NO 9: 組換え型 **5.396.1** - 重鎖CDR3ヌクレオチド配列
GACAACTGGAACGACTCTTTCTACTACTACTACGGTATGGACGTC

SEQ ID NO 10: 組換え型 **5.396.1** - 予測重鎖CDR3アミノ酸配列
DNWNDSFYYYYGMDV

SEQ ID NO 11: 組換え型 **5.396.1** - 完全長の軽鎖ヌクレオチド配列
GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCATCACTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACAT
GTCGGGCGAGTCAGGGCATTAGCAATCATTTAGCCTGGTTTCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTA
AGTCCCTGATCTATGCTGCATCCAGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCAAAGTTCAGCGGCAGTGGATC
TGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATTTTGCAACTTATTACTGCCAAC
AGTATAATAGGCACCCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATCAAAcgaactgtggctgcaccatct
gtcttcatcttcccgccatctgatgagcagttgaaatctggaactgcctctgttgtgtgcctgctgaataacttctatcccagagaggccaaagtacagtg
gaaggtggataacgccctccaatcgggtaactcccaggagagtgtcacagagcaggacagcaaggacagcacctacagcctcagcagcaccc
tgacgctgagcaaagcagactacgagaaacacaaagtctacgcctgcgaagtcacccatcagggcctgagctcgcccgtcacaaagagcttca
acaggggagagtgt

SEQ ID NO 12: 組換え型 **5.396.1** - 予測完全長の軽鎖アミノ酸配列
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISNHLAWFQQKPGKAPKSLIYAASSLQSGVPSKFSGSGSGTD
FTLTISSLQPEDFATYYCQQYNRHPFTFGPGTKVDIKrtvaapsvfifppsdeqlksgtasvvcllnnfypreakvqwkvdnalq
sgnsqesvteqdskdstyslssttltlskadyekhkvyacevthqglsspvtksfnrgec

SEQ ID NO 13: 組換え型 **5.396.1** - 軽鎖可変ドメインヌクレオチド配列
GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCATCACTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACAT
GTCGGGCGAGTCAGGGCATTAGCAATCATTTAGCCTGGTTTCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTA
AGTCCCTGATCTATGCTGCATCCAGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCAAAGTTCAGCGGCAGTGGATC
TGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATTTTGCAACTTATTACTGCCAAC
AGTATAATAGGCACCCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATCAAA

SEQ ID NO 14: 組換え型 **5.396.1** - 予測軽鎖可変ドメインアミノ酸配列
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISNHLAWFQQKPGKAPKSLIYAASSLQSGVPSKFSGSGSGTD
FTLTISSLQPEDFATYYCQQYNRHPFTFGPGTKVDIK

SEQ ID NO 15: 組換え型 **5.396.1** - 軽鎖CDR1ヌクレオチド配列
CGGGCGAGTCAGGGCATTAGCAATCATTTAGCC

SEQ ID NO 16: 組換え型 **5.396.1** - 予測軽鎖CDR1アミノ酸配列
RASQGISNHLA

SEQ ID NO 17: 組換え型 **5.396.1** - 軽鎖CDR2ヌクレオチド配列
GCTGCATCCAGTTTGCAAAGT

SEQ ID NO 18: 組換え型 **5.396.1** - 予測軽鎖CDR2アミノ酸配列
AASSLQS

SEQ ID NO 19: 組換え型 **5.396.1** - 軽鎖CDR3ヌクレオチド配列
CAACAGTATAATAGGCACCCATTCACT

SEQ ID NO 20: 組換え型 **5.396.1** - 予測軽鎖CDR3アミノ酸配列
QQYNRHPFT

SEQ ID NO 21: 組換え型 **5.396.1 (Hc-S103N Lc-K61R)** - 完全長の重鎖ヌクレオチド配列

CAGGTGCAGCTACAGCAGTGGGGCGCAGGACTGTTGAAGCCTTCGGAGACCCTGTCCCTCACCTG
CGCTGTCTATGGTGGGTCCTTCAGTGGTTACTACTGGAGCTGGATCCGCCAGCCCCCAGGGAAGGG
GCTGGAGTGGATTGGGGAAATCCATCATAGTGGAAGCACCAACTACAACCCGTCCCTCAAGAGTCG
AGTCACCATATCAGTAGACACGTCCAAGAACCAGTTCTCCCTGAAGCTGAGCTCTGTGACCGCCGC
GGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGAGACAACTGGAACGACAACTTCTACTACTACTACGGTATG
GACGTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGTCTCCTCAgcctccaccaagggcccatcggtcttcccctggcgccc
tgctccaggagcacctccgagagcacagcggccctgggctgcctggtcaaggactacttccccgaaccggtgacggtgtcgtggaactcaggcg
ctctgaccagcggcgtgcacaccttcccggctgtcctacagtcctcaggactctactccctcagcagcgtagtgaccgtgccctccagcaacttcggc
acccagacctacacctgcaacgtagatcacaagcccagcaacaccaaggtggacaagacagttgagcgcaaatgttgtgtcgagtgcccaccgt
gcccagcaccacctgtggcaggaccgtcagtcttcctcttcccccaaaacccaaggacaccctcatgatctcccggacccctgaggtcacgtgcg
tggtggtggacgtgagccacgaagaccccgaggtccagttcaactggtacgtggacggcgtggaggtgcataatgccaagacaaagccacggg
aggagcagttcaacagcacgttccgtgtggtcagcgtcctcaccgtcgtgcaccaggactggctgaacggcaaggagtacaagtgcaaggtctcc
aacaaaggcctcccagcccccatcgagaaaaccatctccaaaaccaaagggcagccccgagaaccacaggtgtacaccctgcccccatcccg
ggaggagatgaccaagaaccaggtcagcctgacctgcctggtcaaaggcttctaccccagcgacatcgccgtggagtgggagagcaatgggca
gccggagaacaactacaagaccacacctcccatgctggactccgacggctccttcttcctctacagcaagctcaccgtggacaagagcaggtggc
agcaggggaacgtcttctcatgctccgtgatgcatgaggctctgcacaaccactacacacagaagagcctctccctgtctccgggtaaa

SEQ ID NO 22: 組換え型 **5.396.1 (Hc-S103N Lc-K61R)** - 予測完全長の重鎖アミノ酸配列

QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLEWIGEIHHSGSTNYNPSLKSRVTI
SVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARDNWNDNFYYYYGMDVWGQGTTVTVSSastkgpsvfplapcsrstse
staalgclvkdyfpepvtvswnsgaltsgvhtfpavlqssglyslssvvtvpssnfgtqtytcnvdhkpsntkvdktverkccvecppcpappvagps
vflfppkpkdtlmisrtpevtcvvvdvshedpevqfnwyvdgvevhnaktkpreeqfnstfrvvsvltvvhqdwlngkeykckvsnkglpapiektis
ktkgqprepqvytlppsreemtknqvsltclvkgfypsdiavewesngqpennykttppmldsdgsfflyskltvdksrwqqgnvfscsvmhealh
nhytqkslslspgk

SEQ ID NO 23: 組換え型 **5.396.1 (Hc-S103N Lc-K61R)** - 重鎖可変ドメインヌクレオチド配列

CAGGTGCAGCTACAGCAGTGGGGCGCAGGACTGTTGAAGCCTTCGGAGACCCTGTCCCTCACCTG
CGCTGTCTATGGTGGGTCCTTCAGTGGTTACTACTGGAGCTGGATCCGCCAGCCCCCAGGGAAGGG
GCTGGAGTGGATTGGGGAAATCCATCATAGTGGAAGCACCAACTACAACCCGTCCCTCAAGAGTCG
AGTCACCATATCAGTAGACACGTCCAAGAACCAGTTCTCCCTGAAGCTGAGCTCTGTGACCGCCGC
GGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGAGACAACTGGAACGACAACTTCTACTACTACTACGGTATG
GACGTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGTCTCCTCA

SEQ ID NO 24: 組換え型 **5.396.1 (Hc-S103N Lc-K61R)** - 予測重鎖可変ドメインアミノ酸配列

QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLEWIGEIHHSGSTNYNPSLKSRVTI
SVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARDNWNDNFYYYYGMDVWGQGTTVTVSS

SEQ ID NO 25: 組換え型 **5.396.1 (Hc-S103N Lc-K61R)** - 重鎖CDR1ヌクレオチド配列

GGTTACTACTGGAGC

SEQ ID NO 26: 組換え型 **5.396.1 (Hc-S103N Lc-K61R) -** 予測重鎖CDR1アミノ酸配列

GYYWS

SEQ ID NO 27: 組換え型 **5.396.1 (Hc-S103N Lc-K61R) -** 重鎖CDR2ヌクレオチド配列

GAAATCCATCATAGTGGAAGCACCAACTACAACCCGTCCCTCAAGAGT

SEQ ID NO 28: 組換え型 **5.396.1 (Hc-S103N Lc-K61R) -** 予測重鎖CDR2アミノ酸配列

EIHHSGSTNYNPSLKS

SEQ ID NO 29: 組換え型 **5.396.1 (Hc-S103N Lc-K61R) -** 重鎖CDR3ヌクレオチド配列

GACAACTGGAACGACAACTTCTACTACTACTACGGTATGGACGTC

SEQ ID NO 30: 組換え型 **5.396.1 (Hc-S103N Lc-K61R) -** 予測重鎖CDR3アミノ酸配列

DNWNDNFYYYYGMDV

SEQ ID NO 31: 組換え型 **5.396.1 (Hc-S103N Lc-K61R) -** 完全長の軽鎖ヌクレオチド配列

GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCATCACTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACAT
GTCGGGCGAGTCAGGGCATTAGCAATCATTTAGCCTGGTTTCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTA
AGTCCCTGATCTATGCTGCATCCAGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTCAGCGGCAGTGGATC
TGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATTTTGCAACTTATTACTGCCAAC
AGTATAATAGGCACCCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATCAAAcgaactgtggctgcaccatct
gtcttcatcttcccgccatctgatgagcagttgaaatctggaactgcctctgttgtgtgcctgctgaataacttctatcccagagaggccaaagtacagtg
gaaggtggataacgccctccaatcgggtaactcccaggagagtgtcacagagcaggacagcaaggacagcacctacagcctcagcagcaccc
tgacgctgagcaaagcagactacgagaaacacaaagtctacgcctgcgaagtcacccatcagggcctgagctcgcccgtcacaaagagcttca
acaggggagagtgt

SEQ ID NO 32: 組換え型 **5.396.1 (Hc-S103N Lc-K61R) -** 予測完全長の軽鎖アミノ酸配列

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISNHLAWFQQKPGKAPKSLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTD
FTLTISSLQPEDFATYYCQQYNRHPFTFGPGTKVDIKrtvaapsvfifppsdeqlksgtasvvcllnnfypreakvqwkvdnalq
sgnsqesvteqdskdstyslssttltlskadyekhkvyacevthqglsspvtksfnrgec

SEQ ID NO 33: 組換え型 **5.396.1 (Hc-S103N Lc-K61R) -** 軽鎖可変ドメインヌクレオチド配列

GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCATCACTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACAT
GTCGGGCGAGTCAGGGCATTAGCAATCATTTAGCCTGGTTTCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTA
AGTCCCTGATCTATGCTGCATCCAGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTCAGCGGCAGTGGATC
TGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATTTTGCAACTTATTACTGCCAAC
AGTATAATAGGCACCCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATCAAA

SEQ ID NO 34: 組換え型 **5.396.1 (Hc-S103N Lc-K61R) -** 予測軽鎖可変ドメインアミノ酸配列

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISNHLAWFQQKPGKAPKSLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTD
FTLTISSLQPEDFATYYCQQYNRHPFTFGPGTKVDIK

SEQ ID NO 35: 組換え型 **5.396.1 (Hc-S103N Lc-K61R) -** 軽鎖CDR1ヌクレオチド配列

CGGGCGAGTCAGGGCATTAGCAATCATTTAGCC

SEQ ID NO 36: 組換え型 **5.396.1 (Hc-S103N Lc-K61R) -** 予測軽鎖CDR1アミノ酸配列

RASQGISNHLA

SEQ ID NO 37: 組換え型 **5.396.1 (Hc-S103N Lc-K61R) -** 軽鎖CDR2ヌクレオチド配列

GCTGCATCCAGTTTGCAAAGT

SEQ ID NO 38: 組換え型 **5.396.1 (Hc-S103N Lc-K61R) -** 予測軽鎖CDR2アミノ酸配列

AASSLQS

SEQ ID NO 39: 組換え型 **5.396.1 (Hc-S103N Lc-K61R) -** 軽鎖CDR3ヌクレオチド配列

CAACAGTATAATAGGCACCCATTCACT

SEQ ID NO 40: 組換え型 **5.396.1 (Hc-S103N Lc-K61R) -** 予測軽鎖CDR3アミノ酸配列

QQYNRHPFT

SEQ ID NO 41: 組換え型 **6.605.1 -** 完全長の重鎖ヌクレオチド配列

CAGGTTCACCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGATGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGTCTCCTGC
AAGGCTTCTGGTTACACCTTTACCAGCTATGGTATCAGCTGGGTGCGACAGGCCCCTGGACAAGGG
CTTGAGTGGATGGGATGGATCAGCGCTTACAATGGTAACACAAACTATGCACAGAAGCTCCAGGGC
AGAATCACCATGACCACAGACACATCCACGAGCACAGCCTACATGGACCTGAGGAGCCTGAGATCT
GACGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGATGGGGATTACTATGATCCTTTTGACTACTGGGGCC
AGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCAgcctccaccaagggcccatcggtcttcccctggcgccctgctccaggagcacctccg
agagcacagcggccctgggctgcctggtcaaggactacttccccgaaccggtgacggtgtcgtggaactcaggcgctctgaccagcggcgtgca
caccttcccggctgtcctacagtcctcaggactctactccctcagcagcgtagtgaccgtgccctccagcaacttcggcacccagacctacacctgc
aacgtagatcacaagcccagcaacaccaaggtggacaagacagttgagcgcaaatgttgtgtcgagtgcccaccgtgcccagcaccacctgtg
gcaggaccgtcagtcttcctcttcccccaaaacccaaggacaccctcatgatctcccggaccccctgaggtcacgtgcgtggtggtggacgtgagc
cacgaagaccccgaggtccagttcaactggtacgtggacggcgtggaggtgcataatgccaagacaaagccacgggaggagcagttcaacag
cacgttccgtgtggtcagcgtcctcaccgtcgtgcaccaggactggctgaacggcaaggagtacaagtgcaaggtctccaacaaaggcctcccag
ccccatcgagaaaaccatctccaaaaccaaagggcagccccgagaaccacaggtgtacaccctgccccatcccgggaggagatgaccaa
gaaccaggtcagcctgacctgcctggtcaaaggcttctaccccagcgacatcgccgtggagtgggagagcaatgggcagccggagaacaacta
caagaccacacctcccatgctggactccgacggctccttcttcctctacagcaagctcaccgtggacaagagcaggtggcagcaggggaacgtct
tctcatgctccgtgatgcatgaggctctgcacaaccactacacacagaagagcctctccctgtctccgggtaaa

SEQ ID NO 42: 組換え型 **6.605.1 -** 予測完全長の重鎖アミノ酸配列

QVHLVQSGAEVKMPGASVKVSCKASGYTFTSYGISWVRQAPGQGLEWMGWISAYNGNTNYAQKLQGR
ITMTTDTSTSTAYMDLRSLRSDDTAVYYCARDGDYYDPFDYWGQGTLVTVSSastkgpsvfplapcsrstsestaal
gclvkdyfpepvtvswnsgaltsgvhtfpavlqssglyslssvvtvpssnfgtqtytcnvdhkpsntkvdktverkccvecppcpappvagpsvflfp
pkpkdtlmisrtpevtcvvvdvshedpevqfnwyvdgvevhnaktkpreeqfnstfrvvsvltvvhqdwlngkeykckvsnkglpapiektisktkg
qprepqvytlppsreemtknqvsltclvkgfypsdiavewesngqpennykttppmldsdgsfflyskltvdksrwqqgnvfscsvmhealhnhyt
qkslslspgk

SEQ ID NO 43: 組換え型 **6.605.1 -** 重鎖可変ドメインヌクレオチド配列

CAGGTTCACCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGATGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGTCTCCTGC
AAGGCTTCTGGTTACACCTTTACCAGCTATGGTATCAGCTGGGTGCGACAGGCCCCTGGACAAGGG
CTTGAGTGGATGGGATGGATCAGCGCTTACAATGGTAACACAAACTATGCACAGAAGCTCCAGGGC
AGAATCACCATGACCACAGACACATCCACGAGCACAGCCTACATGGACCTGAGGAGCCTGAGATCT
GACGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGATGGGGATTACTATGATCCTTTTGACTACTGGGGCC
AGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCA

SEQ ID NO 44: 組換え型 **6.605.1 -** 予測重鎖可変ドメインアミノ酸配列

QVHLVQSGAEVKMPGASVKVSCKASGYTFTSYGISWVRQAPGQGLEWMGWISAYNGNTNYAQKLQGR
ITMTTDTSTSTAYMDLRSLRSDDTAVYYCARDGDYYDPFDYWGQGTLVTVSS

SEQ ID NO 45: 組換え型 **6.605.1 -** 重鎖CDR1ヌクレオチド配列

AGCTATGGTATCAGC

SEQ ID NO 46: 組換え型 **6.605.1 -** 予測重鎖CDR1アミノ酸配列

SYGIS

SEQ ID NO 47: 組換え型 **6.605.1 -** 重鎖CDR2ヌクレオチド配列

TGGATCAGCGCTTACAATGGTAACACAAACTATGCACAGAAGCTCCAGGGC

SEQ ID NO 48: 組換え型 **6.605.1** - 予測重鎖CDR2アミノ酸配列
WISAYNGNTNYAQKLQG

SEQ ID NO 49: 組換え型 **6.605.1** - 重鎖CDR3ヌクレオチド配列
GATGGGGATTACTATGATCCTTTTGACTAC

SEQ ID NO 50: 組換え型 **6.605.1** - 予測重鎖CDR3アミノ酸配列
DGDYYDPFDY

SEQ ID NO 51: 組換え型 **6.605.1** - 完全長の軽鎖ヌクレオチド配列
GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACTT
GCCGGACAAGTCAGAGTATTAGCAACTGGTTAAATTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAA
ACTCCTGATCTATGGTGCCTCCACTTTGAAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTCAGTGGCAGTGAATCT
GGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCAACTTACTACTGTCAACA
GAGTTACAGTACCCCTCCGACGTTCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAAATCAAAcgaactgtggctgcaccatct
gtcttcatcttcccgccatctgatgagcagttgaaatctggaactgcctctgttgtgtgcctgctgaataacttctatcccagagaggccaaagtacagtg
gaaggtggataacgccctccaatcgggtaactcccaggagagtgtcacagagcaggacagcaaggacagcacctacagcctcagcagcaccc
tgacgctgagcaaagcagactacgagaaacacaaagtctacgcctgcgaagtcacccatcagggcctgagctcgcccgtcacaaagagcttca
acaggggagagtgt

SEQ ID NO 52: 組換え型 **6.605.1** - 予測完全長の軽鎖アミノ酸配列
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRTSQSISNWLNWYQQKPGKAPKLLIYGASTLKSGVPSRFSGSESGTD
FTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPPTFGQGTKVEIKrtvaapsvfifppsdeqlksgtasvvcllnnfypreakvqwkvdnalq
sgnsqesvteqdskdstyslsstltlskadyekhkvyacevthqglsspvtksfnrgec

SEQ ID NO 53: 組換え型 **6.605.1** - 軽鎖可変ドメインヌクレオチド配列
GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACTT
GCCGGACAAGTCAGAGTATTAGCAACTGGTTAAATTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAA
ACTCCTGATCTATGGTGCCTCCACTTTGAAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTCAGTGGCAGTGAATCT
GGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCAACTTACTACTGTCAACA
GAGTTACAGTACCCCTCCGACGTTCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAAATCAAA

SEQ ID NO 54: 組換え型 **6.605.1** - 予測軽鎖可変ドメインアミノ酸配列

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRTSQSISNWLNWYQQKPGKAPKLLIYGASTLKSGVPSRFSGSESGTD
FTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPPTFGQGTKVEIK

SEQ ID NO 55: 組換え型 **6.605.1** - 軽鎖CDR1ヌクレオチド配列
CGGACAAGTCAGAGTATTAGCAACTGGTTAAAT

SEQ ID NO 56: 組換え型 **6.605.1** - 予測軽鎖CDR1アミノ酸配列
RTSQSISNWLN

SEQ ID NO 57: 組換え型 **6.605.1** - 軽鎖CDR2ヌクレオチド配列
GGTGCCTCCACTTTGAAAAGT

SEQ ID NO 58: 組換え型 **6.605.1** - 予測軽鎖CDR2アミノ酸配列
GASTLKS

SEQ ID NO 59: 組換え型 **6.605.1** - 軽鎖CDR3ヌクレオチド配列
CAACAGAGTTACAGTACCCCTCCGACG

SEQ ID NO 60: 組換え型 **6.605.1** - 予測軽鎖CDR3アミノ酸配列
QQSYSTPPT

SEQ ID NO 61: 組換え型 **6.605.1 (Hc-H3Q,M13K,D82E; Lc-T25A,T53S)** - 完全長の重鎖ヌクレオチド配列

CAGGTCCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGTCTCCTG
CAAGGCTTCTGGTTACACCTTTACCAGCTATGGTATCAGCTGGGTGCGACAGGCCCCTGGACAAGG
GCTTGAGTGGATGGGATGGATCAGCGCTTACAATGGTAACACAAACTATGCACAGAAGCTCCAGGG
CAGAATCACCATGACCACAGACACATCCACGAGCACAGCCTACATGGAACTGAGGAGCCTGAGATC

TGACGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGATGGGGATTACTATGATCCTTTTGACTACTGGGGC
CAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCAgcctccaccaagggcccatcggtcttcccctggcgccctgctccaggagcacctcc
gagagcacagcggccctgggctgcctggtcaaggactacttccccgaaccggtgacggtgtcgtggaactcaggcgctctgaccagcggcgtgc
acaccttcccggctgtcctacagtcctcaggactctactccctcagcagcgtagtgaccgtgccctccagcaacttcggcacccagacctacacctg
caacgtagatcacaagcccagcaacaccaaggtggacaagacagttgagcgcaaatgttgtgtcgagtgcccaccgtgcccagcaccacctgtg
gcaggaccgtcagtcttcctcttcccccaaaacccaaggacaccctcatgatctcccggacccctgaggtcacgtgcgtggtggtggacgtgagc
cacgaagaccccgaggtccagttcaactggtacgtggacggcgtggaggtgcataatgccaagacaaagccacgggaggagcagttcaacag
cacgttccgtgtggtcagcgtcctcaccgtcgtgcaccaggactggctgaacggcaaggagtacaagtgcaaggtctccaacaaaggcctcccag
ccccatcgagaaaaccatctccaaaaccaaagggcagccccgagaaccacaggtgtacaccctgcccccatcccgggaggagatgaccaa
gaaccaggtcagcctgacctgcctggtcaaaggcttctaccccagcgacatcgccgtggagtgggagagcaatgggcagccggagaacaacta
caagaccacacctcccatgctggactccgacggctccttcttcctctacagcaagctcaccgtggacaagagcaggtggcagcaggggaacgtct
tctcatgctccgtgatgcatgaggctctgcacaaccactacacacagaagagcctctccctgtctccgggtaaa

SEQ ID NO 62: 組換え型 **6.605.1 (Hc-H3Q,M13K,D82E; Lc-T25A,T53S)** - 予測完全長の重鎖アミノ酸配列

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYGISWVRQAPGQGLEWMGWISAYNGNTNYAQKLQGR
ITMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDGDYYDPFDYWGQGTLVTVSSastkgpsvfplapcsrstsestaal
gclvkdyfpepvtvswnsgaltsgvhtfpavlqssglyslssvvtvpssnfgtqtytcnvdhkpsntkvdktverkccvecppcpappvagpsvflfp
pkpkdtlmisrtpevtcvvvdvshedpevqfnwyvdgvevhnaktkpreeqfnstfrvvsvltvvhqdwlngkeykckvsnkglpapiektisktkg
qprepqvytlppsreemtknqvsltclvkgfypsdiavewesngqpennyklppmldsdgsfflyskltvdksrwqqgnvfscsvmhealhnhyt
qkslslspgk

SEQ ID NO 63: 組換え型 **6.605.1 (Hc-H3Q,M13K,D82E; Lc-T25A,T53S)** - 重鎖可変ドメインヌクレオチド配列

CAGGTCCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGTCTCCTG
CAAGGCTTCTGGTTACACCTTTACCAGCTATGGTATCAGCTGGGTGCGACAGGCCCCTGGACAAGG
GCTTGAGTGGATGGGATGGATCAGCGCTTACAATGGTAACACAAACTATGCACAGAAGCTCCAGGG
CAGAATCACCATGACCACAGACACATCCACGAGCACAGCCTACATGGAACTGAGGAGCCTGAGATC
TGACGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGATGGGGATTACTATGATCCTTTTGACTACTGGGGC
CAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCA

SEQ ID NO 64: 組換え型 **6.605.1 (Hc-H3Q,M13K,D82E; Lc-T25A,T53S)** - 予測重鎖可変ドメインアミノ酸配列

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYGISWVRQAPGQGLEWMGWISAYNGNTNYAQKLQGR
ITMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDGDYYDPFDYWGQGTLVTVSS

SEQ ID NO 65: 組換え型 **6.605.1 (Hc-H3Q,M13K,D82E; Lc-T25A,T53S)** - 重鎖CDR1ヌクレオチド配列

AGCTATGGTATCAGC

SEQ ID NO 66: 組換え型 **6.605.1 (Hc-H3Q,M13K,D82E; Lc-T25A,T53S)** - 予測重鎖CDR1アミノ酸配列

SYGIS

SEQ ID NO 67: 組換え型 **6.605.1 (Hc-H3Q,M13K,D82E; Lc-T25A,T53S)** - 重鎖CDR2ヌクレオチド配列

TGGATCAGCGCTTACAATGGTAACACAAACTATGCACAGAAGCTCCAGGGC

SEQ ID NO 68: 組換え型 **6.605.1 (Hc-H3Q,M13K,D82E; Lc-T25A,T53S)** - 予測重鎖CDR2アミノ酸配列

WISAYNGNTNYAQKLQG

SEQ ID NO 69: 組換え型 **6.605.1 (Hc-H3Q,M13K,D82E; Lc-T25A,T53S)** - 重鎖CDR3ヌクレオチド配列

GATGGGGATTACTATGATCCTTTTGACTAC

SEQ ID NO 70: 組換え型 **6.605.1 (Hc-H3Q,M13K,D82E; Lc-T25A,T53S)** - 予測重鎖CDR3アミノ酸配列

DGDYYDPFDY

SEQ ID NO 71: 組換え型 **6.605.1 (Hc-H3Q,M13K,D82E; Lc-T25A,T53S)** - 完全長の軽鎖ヌクレオチド配列

GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACTT
GCCGGGCAAGTCAGAGTATTAGCAACTGGTTAAATTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAA
ACTCCTGATCTATGGTGCCTCCAGTTTGAAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTCAGTGGCAGTGAATCT
GGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCAACTTACTACTGTCAACA
GAGTTACAGTACCCCTCCGACGTTCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAAATCAAAcgaactgtggctgcaccatct
gtcttcatcttcccgccatctgatgagcagttgaaatctggaactgcctctgttgtgtgcctgctgaataacttctatcccagagaggccaaagtacagtg
gaaggtggataacgccctccaatcgggtaactcccaggagagtgtcacagagcaggacagcaaggacagcacctacagcctcagcagcaccc
tgacgctgagcaaagcagactacgagaaacacaaagtctacgcctgcgaagtcacccatcagggcctgagctcgcccgtcacaaagagcttca
acaggggagagtgt

SEQ ID NO 72: 組換え型 **6.605.1 (Hc-H3Q,M13K,D82E; Lc-T25A,T53S)** - 予測完全長の軽鎖アミノ酸配列

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISNWLNWYQQKPGKAPKLLIYGASSLKSGVPSRFSGSESGT
DFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPPTFGQGTKVEIKrtvaapsvfifppsdeqlksgtasvvcllnnfypreakvqwkvdnal
qsgnsqesvteqdskdstyslsstltlskadyekhkvyacevthqglsspvtksfnrgec

SEQ ID NO 73: 組換え型 **6.605.1 (Hc-H3Q,M13K,D82E; Lc-T25A,T53S)** - 軽鎖可変ドメインヌクレオチド配列

GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACTT
GCCGGGCAAGTCAGAGTATTAGCAACTGGTTAAATTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAA
ACTCCTGATCTATGGTGCCTCCAGTTTGAAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTCAGTGGCAGTGAATCT
GGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCAACTTACTACTGTCAACA
GAGTTACAGTACCCCTCCGACGTTCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAAATCAAA

SEQ ID NO 74: 組換え型 **6.605.1 (Hc-H3Q,M13K,D82E; Lc-T25A,T53S)** - 予測軽鎖可変ドメインアミノ酸配列

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISNWLNWYQQKPGKAPKLLIYGASSLKSGVPSRFSGSESGT
DFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPPTFGQGTKVEIK

SEQ ID NO 75: 組換え型 **6.605.1 (Hc-H3Q,M13K,D82E; Lc-T25A,T53S)** - 軽鎖CDR1ヌクレオチド配列

CGGGCAAGTCAGAGTATTAGCAACTGGTTAAAT

SEQ ID NO 76: 組換え型 **6.605.1 (Hc-H3Q,M13K,D82E; Lc-T25A,T53S)** - 予測軽鎖CDR1アミノ酸配列

RASQSISNWLN

SEQ ID NO 77: 組換え型 **6.605.1 (Hc-H3Q,M13K,D82E; Lc-T25A,T53S)** - 軽鎖CDR2ヌクレオチド配列

GGTGCCTCCAGTTTGAAAAGT

SEQ ID NO 78: 組換え型 **6.605.1 (Hc-H3Q,M13K,D82E; Lc-T25A,T53S)** - 予測軽鎖CDR2アミノ酸配列

GASSLKS

SEQ ID NO 79: 組換え型 **6.605.1 (Hc-H3Q,M13K,D82E; Lc-T25A,T53S)** - 軽鎖CDR3ヌクレオチド配列

CAACAGAGTTACAGTACCCCTCCGACG

SEQ ID NO 80: 組換え型 **6.605.1 (Hc-H3Q,M13K,D82E; Lc-T25A,T53S)** - 予測軽鎖CDR3アミノ酸配列

QQSYSTPPT

SEQ ID NO 81: 組換え型 **5.948.1** - 完全長の重鎖ヌクレオチド配列
CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGTCTCCTG
CAAGGCTTCTGGATACACCTTCACCAGTTATGATATCAACTGGGTGCGACAGGCCACTGGACAAGG
GCTTGAGTGGATGGGATGGATGGACCCTAACAGTGGTAACACAGGCTATGCACAGAAGTTCCAGGG
CAGAGTCACCATGACCAGGAACACCTCCATAAGCACAGCCTACATGGAGCTGAGCAGCCTGAGATC
TGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGGCCACTATGATAGTGATGGTTATTACTCCTTCTCC
GGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGTCTCCTCAgcctccaccaagggcccatcggtcttcccc
ctggcgccctgctccaggagcacctccgagagcacagcggccctgggctgcctggtcaaggactacttccccgaaccggtgacggtgtcgtgga
actcaggcgctctgaccagcggcgtgcacaccttcccggctgtcctacagtcctcaggactctactccctcagcagcgtagtgaccgtgccctccag
caacttcggcacccagacctacacctgcaacgtagatcacaagcccagcaacaccaaggtggacaagacagttgagcgcaaatgttgtgtcga

gtgcccaccgtgcccagcaccacctgtggcaggaccgtcagtcttcctcttcccccaaaacccaaggacaccctcatgatctcccggacccctga
ggtcacgtgcgtggtggtggacgtgagccacgaagaccccgaggtccagttcaactggtacgtggacggcgtggaggtgcataatgccaagaca
aagccacgggaggagcagttcaacagcacgttccgtgtggtcagcgtcctcaccgtcgtgcaccaggactggctgaacggcaaggagtacaagt
gcaaggtctccaacaaaggcctcccagcccccatcgagaaaaccatctccaaaaccaaagggcagccccgagaaccacaggtgtacaccctg
cccccatcccgggaggagatgaccaagaaccaggtcagcctgacctgcctggtcaaaggcttctaccccagcgacatcgccgtggagtgggag
agcaatgggcagccggagaacaactacaagaccacacctcccatgctggactccgacggctccttcttcctctacagcaagctcaccgtggacaa
gagcaggtggcagcaggggaacgtcttctcatgctccgtgatgcatgaggctctgcacaaccactacacacagaagagcctctccctgtctccggg
taaa

SEQ ID NO 82: 組換え型 **5.948.1** - 予測完全長の重鎖アミノ酸配列
QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYDINWVRQATGQGLEWMGWMDPNSGNTGYAQKFQG
RVTMTRNTSISTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGHYDSDGYYSFSGMDVWGQGTTVTVSSastkgpsvfplap
csrstsestaalgclvkdyfpepvtvswnsgaltsgvhtfpavlqssglyslssvvtvpssnfgtqtytcnvdhkpsntkvdktverkccvecppcpap
pvagpsvflfppkpkdtlmisrtpevtcvvvdvshedpevqfnwyvdgvevhnaktkpreeqfnstfrvvsvltvvhqdwlngkeykckvsnkglp
apiektisktkgqprepqvytlppsreemtknqvsltclvkgfypsdiavewesngqpennykttppmldsdgsfflyskltvdksrwqqgnvfscsv
mhealhnhytqkslslspgk

SEQ ID NO 83: 組換え型 **5.948.1** - 重鎖可変ドメインヌクレオチド配列
CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGTCTCCTG
CAAGGCTTCTGGATACACCTTCACCAGTTATGATATCAACTGGGTGCGACAGGCCACTGGACAAGG
GCTTGAGTGGATGGGATGGATGGACCCTAACAGTGGTAACACAGGCTATGCACAGAAGTTCCAGGG
CAGAGTCACCATGACCAGGAACACCTCCATAAGCACAGCCTACATGGAGCTGAGCAGCCTGAGATC
TGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGGCCACTATGATAGTGATGGTTATTACTCCTTCTCC
GGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGTCTCCTCA

SEQ ID NO 84: 組換え型 **5.948.1** - 予測重鎖可変ドメインアミノ酸配列

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYDINWVRQATGQGLEWMGWMDPNSGNTGYAQKFQG
RVTMTRNTSISTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGHYDSDGYYSFSGMDVWGQGTTVTVSS

SEQ ID NO 85: 組換え型 **5.948.1** - 重鎖CDR1ヌクレオチド配列
AGTTATGATATCAAC

SEQ ID NO 86: 組換え型 **5.948.1** - 予測重鎖CDR1アミノ酸配列
SYDIN

SEQ ID NO 87: 組換え型 **5.948.1** - 重鎖CDR2ヌクレオチド配列
TGGATGGACCCTAACAGTGGTAACACAGGCTATGCACAGAAGTTCCAGGGC

SEQ ID NO 88: 組換え型 **5.948.1** - 予測重鎖CDR2アミノ酸配列
WMDPNSGNTGYAQKFQG

SEQ ID NO 89: 組換え型 **5.948.1** - 重鎖CDR3ヌクレオチド配列
GGCCACTATGATAGTGATGGTTATTACTCCTTCTCCGGTATGGACGTC

SEQ ID NO 90: 組換え型 **5.948.1** - 予測重鎖CDR3アミノ酸配列
GHYDSDGYYSFSGMDV

SEQ ID NO 91: 組換え型 **5.948.1** - 完全長の軽鎖ヌクレオチド配列
GATATTGTGATGACTCAGTCTCCACTCTCCCTGCCCGTCACCCCTGGAGAGCCGGCCTCCATCTCCT
GTAGGTCTAGTCAGAGCCTCCTGCATAGGAATGGATACAACTACTTGGATTGGTACCTGCAGAAGCC
AGGGCAGTCTCCACAGCTCCTGATCTATTTGGGTTCTAATCGGGCCTCCGGGGTCCCTGACAGGTT
CAGTGGCAGTGGATCAGGCACAGATTTTACACTGAAAATCAGCAGAGTGGAGGCTGAGGATGTTGG
GGTTTATTACTGCATGCAAGCTCTACAAACTCCTCCGGCCACTTTCGGCGGAGGGACCAAGGTGGA
GATCAAAcgaactgtggctgcaccatctgtcttcatcttcccgccatctgatgagcagttgaaatctggaactgcctctgttgtgtgcctgctgaataa
cttctatcccagagaggccaaagtacagtggaaggtggataacgccctccaatcgggtaactcccaggagagtgtcacagagcaggacagcaa
ggacagcacctacagcctcagcagcaccctgacgctgagcaaagcagactacgagaaacacaaagtctacgcctgcgaagtcacccatcagg
gcctgagctcgcccgtcacaaagagcttcaacaggggagagtgt

SEQ ID NO 92: 組換え型 **5.948.1** - 予測完全長の軽鎖アミノ酸配列
DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLLHRNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPDRFSGS
GSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPPATFGGGTKVEIKrtvaapsvfifppsdeqlksgtasvvcllnnfypreakv
qwkvdnalqsgnsqesvteqdskdstyslsstltlskadyekhkvyacevthqglsspvtksfnrgec

SEQ ID NO 93: 組換え型 **5.948.1** - 軽鎖可変ドメインヌクレオチド配列
GATATTGTGATGACTCAGTCTCCACTCTCCCTGCCCGTCACCCCTGGAGAGCCGGCCTCCATCTCCT
GTAGGTCTAGTCAGAGCCTCCTGCATAGGAATGGATACAACTACTTGGATTGGTACCTGCAGAAGCC
AGGGCAGTCTCCACAGCTCCTGATCTATTTGGGTTCTAATCGGGCCTCCGGGGTCCCTGACAGGTT
CAGTGGCAGTGGATCAGGCACAGATTTTACACTGAAAATCAGCAGAGTGGAGGCTGAGGATGTTGG
GGTTTATTACTGCATGCAAGCTCTACAAACTCCTCCGGCCACTTTCGGCGGAGGGACCAAGGTGGA
GATCAAA

SEQ ID NO 94: 組換え型 **5.948.1** - 予測軽鎖可変ドメインアミノ酸配列

DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLLHRNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPDRFSGS
GSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPPATFGGGTKVEIK

SEQ ID NO 95: 組換え型 **5.948.1** - 軽鎖CDR1ヌクレオチド配列
AGGTCTAGTCAGAGCCTCCTGCATAGGAATGGATACAACTACTTGGAT

SEQ ID NO 96: 組換え型 **5.948.1** - 予測軽鎖CDR1アミノ酸配列
RSSQSLLHRNGYNYLD

SEQ ID NO 97: 組換え型 **5.948.1** - 軽鎖CDR2ヌクレオチド配列
TTGGGTTCTAATCGGGCCTCC

SEQ ID NO 98: 組換え型 **5.948.1** - 予測軽鎖CDR2アミノ酸配列
LGSNRAS

SEQ ID NO 99: 組換え型 **5.948.1** - 軽鎖CDR3ヌクレオチド配列
ATGCAAGCTCTACAAACTCCTCCGGCCACT

SEQ ID NO 100: 組換え型 **5.948.1** - 予測軽鎖CDR3アミノ酸配列
MQALQTPPAT

SEQ ID NO 101: ハイブリドーマからの5.396.1－重鎖ヌクレオチド配列
CAGGTGCAGCTACAGCAGTGGGGCGCAGGACTGTTGAAGCCTTCGGAGACCCTGTCCCTCACCTG
CGCTGTCTATGGTGGGTCCTTCAGTGGTTACTACTGGAGCTGGATCCGCCAGCCCCCAGGGAAGGG
GCTGGAGTGGATTGGGGAAATCCATCATAGTGGAAGCACCAACTACAACCCGTCCCTCAAGAGTCG
AGTCACCATATCAGTAGACACGTCCAAGAACCAGTTCTCCCTGAAGCTGAGCTCTGTGACCGCCGC
GGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGAGACAACTGGAACGACTCTTTCTACTACTACTACGGTATG
GACGTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGTCTCCTCAgcctccaccaagggcccatcggtcttcccctggcgccc
tgctccaggagcacctccgagagcacagcggccctgggctgcctggtcaaggactacttccccgaaccggtgacggtgtcgtggaactcaggcg
ctctgaccagcggcgtgcacaccttcccagctgtcctacagtcctcaggactctactccctcagcagcgtggtgaccgtgccctccagcaacttcggc
acccagacctacacctgcaacgtagatcacaagcccagcaacaccaaggtggacaagacagttgagcgcaaatgttgtgtcgagtgcccaccgt
gcccagcaccacctgtggcaggaccgtcagtcttcctcttcccccaaaacccaaggacaccctcatgatctcccggaccccgaggtcacgtgcg
tggtggtggacgtgagccacgaagaccccgaggtccagttcaactggtacgtggacggcgtggaggtgcataatgccaagacaaagccacggg
aggagcagttcaacagcacgttccgtgtggtcagcgtcctcaccgttgtgcaccaggactggctgaacggcaaggagtacaagtgcaaggtctcc
aacaaaggcctcccagccccatcgagaaaaccatctccaaaaccaaagggcagccccgagaaccacaggtgtacaccctgcccccatcccg
ggaggagatgaccaagaaccaggtcagcctgacctgcctggtcaaaggcttctaccccagcgacatcgccgtggagtgggagagcaatgggca
gccggagaacaactacaagaccacacctcccatgctggactccgacggctccttcttcctctacagcaagctcaccgtggacaagagcaggtggc
agcaggggaacgtcttctcatgctccgtgatgcatgaggctctgcacaaccactacacgcagaagagcctctccctgtctccgggtaaa

SEQ ID NO 102: ハイブリドーマからの5.396.1－予測重鎖アミノ酸配列
QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLEWIGEIHHSGSTNYNPSLKSRVTI
SVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARDNWNDSFYYYYGMDVWGQGTTVTVSSastkgpsvfplapcsrstse
staalgclvkdyfpepvtvswnsgaltsgvhtfpavlqssglyslssvvtvpssnfgtqtytcnvdhkpsntkvdktverkccvecppcpappvagps
vflfppkpkdtlmisrtpevtcvvvdvshedpevqfnwyvdgvevhnaktkpreeqfnstfrvvsvltvvhqdwlngkeykckvsnkglpapiektis
ktkgqprepqvytlppsreemtknqvsltclvkgfypsdiavewesngqpennykttppmldsdgsfflyskltvdksrwqqgnvfscsvmhealh
nhytqkslslspgk

SEQ ID NO 103: ハイブリドーマからの5.396.1－軽鎖ヌクレオチド配列
GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCATCACTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACAT
GTCGGGCGAGTCAGGGCATTAGCAATCATTTAGCCTGGTTTCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTA
AGTCCCTGATCTATGCTGCATCCAGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCAAAGTTCAGCGGCAGTGGATC
TGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATTTTGCAACTTATTACTGCCAAC

AGTATAATAGGCACCCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATCAAAcgaactgtggctgcaccatct
gtcttcatcttcccgccatctgatgagcagttgaaatctggaactgcctctgttgtgtgcctgctgaataacttctatcccagagaggccaaagtacagtg
gaaggtggataacgccctccaatcgggtaactcccaggagagtgtcacagagcaggacagcaaggacagcacctacagcctcagcagcaccc
tgacgctgagcaaagcagactacgagaaacacaaagtctacgcctgcgaagtcacccatcagggcctgagctcgcccgtcacaaagagcttca
acaggggagagtgt

SEQ ID NO 104: ハイブリドーマからの5.396.1一予測軽鎖アミノ酸配列
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISNHLAWFQQKPGKAPKSLIYAASSLQSGVPSKFSGSGSGTD
FTLTISSLQPEDFATYYCQQYNRHPFTFGPGTKVDIKrtvaapsvfifppsdeqlksgtasvvcllnnfypreakvqwkvdnalq
sgnsqesvteqdskdstyslsstltlskadyekhkvyacevthqglsspvtksfnrgec

SEQ ID NO 105: ハイブリドーマからの6.605.1一重鎖ヌクレオチド配列
CAGGTTCACCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGATGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGTCTCCTGC
AAGGCTTCTGGTTACACCTTTACCAGCTATGGTATCAGCTGGGTGCGACAGGCCCCTGGACAAGGG
CTTGAGTGGATGGGATGGATCAGCGCTTACAATGGTAACACAAACTATGCACAGAAGCTCCAGGGC
AGAATCACCATGACCACAGACACATCCACGAGCACAGCCTACATGGACCTGAGGAGCCTGAGATCT
GACGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGATGGGGATTACTATGATCCTTTTGACTACTGGGGCC
AGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCAgcctccaccaagggcccatcggtcttcccctggcgccctgctccaggagcacctccg
agagcacagcggccctgggctgcctggtcaaggactacttccccgaaccggtgacggtgtcgtggaactcaggcgctctgaccagcggcgtgca
caccttcccagctgtcctacagtcctcaggactctactccctcagcagcgtggtgaccgtgccctccagcaacttcggcacccagacctacacctgc
aacgtagatcacaagcccagcaacaccaaggtggacaagacagttgagcgcaaatgttgtgtcgagtgcccaccgtgcccagcaccacctgtg
gcaggaccgtcagtcttcctcttcccccaaaacccaaggacaccctcatgatctcccggacccctgaggtcacgtgcgtggtggtggacgtgagc
cacgaagaccccgaggtccagttcaactggtacgtggacggcgtggaggtgcataatgccaagacaaagccacgggaggagcagttcaacag
cacgttccgtgtggtcagcgtcctcaccgttgtgcaccaggactggctgaacggcaaggagtacaagtgcaaggtctccaacaaaggcctcccag
ccccatcgagaaaaccatctccaaaaccaaagggcagccccgagaaccacaggtgtacaccctgccccatcccgggaggagatgaccaa
gaaccaggtcagcctgacctgcctggtcaaaggcttctaccccagcgacatcgccgtggagtgggagagcaatgggcagccggagaacaacta
caagaccacacctcccatgctggactccgacggctccttcttcctctacagcaagctcaccgtggacaagagcaggtggcagcaggggaacgtct
tctcatgctccgtgatgcatgaggctctgcacaaccactacacgcagaagagcctctccctgtctccgggtaaa

SEQ ID NO 106: ハイブリドーマからの6.605.1一予測重鎖アミノ酸配列
QVHLVQSGAEVKMPGASVKVSCKASGYTFTSYGISWVRQAPGQGLEWMGWISAYNGNTNYAQKLQGR
ITMTTDTSTSTAYMDLRSLRSDDTAVYYCARDGDYYDPFDYWGQGTLVTVSSastkgpsvfplapcsrstsestaal
gclvkdyfpepvtvswnsgaltsgvhtfpavlqssglyslssvvtvpssnfgtqtytcnvdhkpsntkvdktverkccvecppcpappvagpsvflfp
pkpkdtlmisrtpevtcvvvdvshedpevqfnwyvdgvevhnaktkpreeqfnstfrvvsvltvvhqdwlngkeykckvsnkglpapiektisktkg
qprepqvytlppsreemtknqvsltclvkgfypsdiavewesngqpennykttppmldsdgsfflyskltvdksrwqqgnvfscsvmhealhnhyt
qkslslspgk

SEQ ID NO 107: ハイブリドーマからの6.605.1一軽鎖ヌクレオチド配列
GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACTT
GCCGGACAAGTCAGAGTATTAGCAACTGGTTAAATTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAA
ACTCCTGATCTATGGTGCCTCCACTTTGAAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTCAGTGGCAGTGAATCT
GGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCAACTTACTACTGTCAACA
GAGTTACAGTACCCCTCCGACGTTCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAAATCAAAcgaactgtggctgcaccatct
gtcttcatcttcccgccatctgatgagcagttgaaatctggaactgcctctgttgtgtgcctgctgaataacttctatcccagagaggccaaagtacagtg
gaaggtggataacgccctccaatcgggtaactcccaggagagtgtcacagagcaggacagcaaggacagcacctacagcctcagcagcaccc
tgacgctgagcaaagcagactacgagaaacacaaagtctacgcctgcgaagtcacccatcagggcctgagctcgcccgtcacaaagagcttca
acaggggagagtgt

SEQ ID NO 108: ハイブリドーマからの6.605.1一予測軽鎖アミノ酸配列
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRTSQSISNWLNWYQQKPGKAPKLLIYGASTLKSGVPSRFSGSESGTD
FTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPPTFGQGTKVEIKrtvaapsvfifppsdeqlksgtasvvcllnnfypreakvqwkvdnalq
sgnsqesvteqdskdstyslsstltlskadyekhkvyacevthqglsspvtksfnrgec

SEQ ID NO 109: ハイブリドーマからの5.948.1一重鎖ヌクレオチド配列
CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGTCTCCTG
CAAGGCTTCTGGATACACCTTCACCAGTTATGATATCAACTGGGTGCGACAGGCCACTGGACAAGG
GCTTGAGTGGATGGGATGGATGGACCCTAACAGTGGTAACACAGGCTATGCACAGAAGTTCCAGGG
CAGAGTCACCATGACCAGGAACACCTCCATAAGCACAGCCTACATGGAGCTGAGCAGCCTGAGATC
TGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGGCCACTATGATAGTGATGGTTATTACTCCTTCTCC
GGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGTCTCCTCAgcctccaccaagggcccatcggtcttcccc
ctggcgccctgctccaggagcacctccgagagcacagcggccctgggctgcctggtcaaggactacttccccgaaccggtgacggtgtcgtgga
actcaggcgctctgaccagcggcgtgcacaccttcccagctgtcctacagtcctcaggactctactccctcagcagcgtggtgaccgtgccctccag
caacttcggcacccagacctacacctgcaacgtagatcacaagcccagcaacaccaaggtggacaagacagttgagcgcaaatgttgtgtcga

gtgcccaccgtgcccagcaccacctgtggcaggaccgtcagtcttcctcttcccccaaaacccaaggacaccctcatgatctcccggacccctga
ggtcacgtgcgtggtggtggacgtgagccacgaagaccccgaggtccagttcaactggtacgtggacggcgtggaggtgcataatgccaagaca
aagccacgggaggagcagttcaacagcacgttccgtgtggtcagcgtcctcaccgttgtgcaccaggactggctgaacggcaaggagtacaagt
gcaaggtctccaacaaaggcctcccagccccatcgagaaaaccatctccaaaaccaaagggcagccccgagaaccacaggtgtacaccctg
cccccatcccgggaggagatgaccaagaaccaggtcagcctgacctgcctggtcaaaggcttctaccccagcgacatcgccgtggagtgggag
agcaatgggcagccggagaacaactacaagaccacacctcccatgctggactccgacggctccttcttcctctacagcaagctcaccgtggacaa
gagcaggtggcagcaggggaacgtcttctcatgctccgtgatgcatgaggctctgcacaaccactacacgcagaagagcctctccctgtctccggg
taaa

SEQ ID NO 110: ハイブリドーマからの5.948.1一予測重鎖アミノ酸配列
QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYDINWVRQATGQGLEWMGWMDPNSGNTGYAQKFQG
RVTMTRNTSISTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGHYDSDGYYSFSGMDVWGQGTTVTVSSastkgpsvfplap
csrstsestaalgclvkdyfpepvtvswnsgaltsgvhtfpavlqssglyslssvvtvpssnfgtqtytcnvdhkpsntkvdktverkccvecppcpap
pvagpsvflfppkpkdtlmisrtpevtcvvvdvshedpevqfnwyvdgvevhnaktkpreeqfnstfrvvsvltvvhqdwlngkeykckvsnkglp
apiektisktkgqprepqvytlppsreemtknqvsltclvkgfypsdiavewesngqpennykttppmldsdgsfflyskltvdksrwqqgnvfscsv
mhealhnhytqkslslspgk

SEQ ID NO 111: ハイブリドーマからの5.948.1一軽鎖ヌクレオチド配列
GATATTGTGATGACTCAGTCTCCACTCTCCCTGCCCGTCACCCCTGGAGAGCCGGCCTCCATCTCCT
GTAGGTCTAGTCAGAGCCTCCTGCATAGGAATGGATACAACTACTTGGATTGGTACCTGCAGAAGCC
AGGGCAGTCTCCACAGCTCCTGATCTATTTGGGTTCTAATCGGGCCTCCGGGGTCCCTGACAGGTT
CAGTGGCAGTGGATCAGGCACAGATTTTACACTGAAAATCAGCAGAGTGGAGGCTGAGGATGTTGG
GGTTTATTACTGCATGCAAGCTCTACAAACTCCTCCGGCCACTTTCGGCGGAGGGACCAAGGTGGA
GATCAAAcgaactgtggctgcaccatctgtcttcatcttcccgccatctgatgagcagttgaaatctggaactgcctctgttgtgtgcctgctgaataa
cttctatcccagagaggccaaagtacagtggaaggtggataacgccctccaatcgggtaactcccaggagagtgtcacagagcaggacagcaa
ggacagcacctacagcctcagcagcaccctgacgctgagcaaagcagactacgagaaacacaaagtctacgcctgcgaagtcacccatcagg
gcctgagctcgcccgtcacaaagagcttcaacaggggagagtgt

SEQ ID NO 112: ハイブリドーマからの5.948.1一予測軽鎖アミノ酸配列
DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLLHRNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPDRFSGS
GSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPPATFGGGTKVEIKrtvaapsvfifppsdeqlksgtasvvcllnnfypreakv
qwkvdnalqsgnsqesvteqdskdstyslsstltlskadyekhkvyacevthqglsspvtksfnrgec

SEQ ID NO 121: 組換え型 **5.948.1(H100Y)-** 完全長の重鎖ヌクレオチド配列
CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGTCTCCTG
CAAGGCTTCTGGATACACCTTCACCAGTTATGATATCAACTGGGTGCGACAGGCCACTGGACAAGG
GCTTGAGTGGATGGGATGGATGGACCCTAACAGTGGTAACACAGGCTATGCACAGAAGTTCCAGGG
CAGAGTCACCATGACCAGGAACACCTCCATAAGCACAGCCTACATGGAGCTGAGCAGCCTGAGATC
TGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGGCTACTATGATAGTGATGGTTATTACTCCTTCTCC
GGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGTCTCCTCAgcctccaccaagggcccatcggtcttcccc
ctggcgccctgctccaggagcacctccgagagcacagcggccctgggctgcctggtcaaggactacttccccgaaccggtgacggtgtcgtgga
actcaggcgctctgaccagcggcgtgcacaccttcccggctgtcctacagtcctcaggactctactccctcagcagcgtagtgaccgtgccctccag
caacttcggcacccagacctacacctgcaacgtagatcacaagcccagcaacaccaaggtggacaagacagttgagcgcaaatgttgtgtcga
gtgcccaccgtgcccagcaccacctgtggcaggaccgtcagtcttcctcttcccccaaaacccaaggacaccctcatgatctccc
Ggacccctgaggtcacgtgcgtggtggtggacgtgagccacgaagaccccgaggtccagttcaactggtacgtggacggcgtggaggtgcataa
tgccaagacaaagccacgggaggagcagttcaacagcacgttccgtgtggtcagcgtcctcaccgtcgtgcaccaggactggctgaacggcaa
ggagtacaagtgcaaggtctccaacaaaggcctcccagccccatcgagaaaaccatctccaaaaccaaagggcagccccgagaaccacag
gtgtacaccctgccccatcccgggaggagatgaccaagaaccaggtcagcctgacctgcctggtcaaaggcttctaccccagcgacatcgccgt
ggagtgggagagcaatgggcagccggagaacaactacaagaccacacctcccatgctggactccgacggctccttcttcctctacagcaagctc
accgtggacaagagcaggtggcagcaggggaacgtcttctcatgctccgtgatgcatgaggctctgcacaaccactacacacagaagagcctct
ccctgtctccgggtaaa

SEQ ID NO 122: 組換え型 **5.948.1(H100Y)-** 予測完全長の重鎖アミノ酸配列

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYDINWVRQATGQGLEWMGWMDPNSGNTGYAQKFQG
RVTMTRNTSISTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGYYDSDGYYSFSGMDVWGQGTTVTVSSastkgpsvfplap
csrstsestaalgclvkdyfpepvtvswnsgaltsgvhtfpavlqssglyslssvvtvpssnfgtqtytcnvdhkpsntkvdktverkccvecppcpap
pvagpsvflfppkpkdtlmisrtpevtcvvvdvshedpevqfnwyvdgvevhnaktkpreeqfnstfrvvsvltvvhqdwlngkeykckvsnkglp
apiektisktkgqprepqvytlppsreemtknqvsltclvkgfypsdiavewesngqpennykttppmldsdgsfflyskltvdksrwqqgnvfscsv
mhealhnhytqkslslspgk

SEQ ID NO 123: 組換え型 **5.948.1(H100Y)-** 重鎖可変ドメインヌクレオチド配列

CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGTCTCCTG
CAAGGCTTCTGGATACACCTTCACCAGTTATGATATCAACTGGGTGCGACAGGCCACTGGACAAGG
GCTTGAGTGGATGGGATGGATGGACCCTAACAGTGGTAACACAGGCTATGCACAGAAGTTCCAGGG
CAGAGTCACCATGACCAGGAACACCTCCATAAGCACAGCCTACATGGAGCTGAGCAGCCTGAGATC
TGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGGCTACTATGATAGTGATGGTTATTACTCCTTCTCC
GGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGTCTCCTCA

SEQ ID NO 124: 組換え型 **5.948.1 (H100Y)** - 予測重鎖可変ドメインアミノ酸配列

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYDINWVRQATGQGLEWMGWMDPNSGNTGYAQKFQG
RVTMTRNTSISTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGYYDSDGYYSFSGMDVWGQGTTVTVSS

SEQ ID NO 125: 組換え型 **5.948.1 (H100Y)** - 重鎖CDR1ヌクレオチド配列
AGTTATGATATCAAC

SEQ ID NO 126: 組換え型 **5.948.1 (H100Y)** - 予測重鎖CDR1アミノ酸配列

SYDIN

SEQ ID NO 127: 組換え型 **5.948.1 (H100Y)** - 重鎖CDR2ヌクレオチド配列
TGGATGGACCCTAACAGTGGTAACACAGGCTATGCACAGAAGTTCCAGGGC

SEQ ID NO 128: 組換え型 **5.948.1 (H100Y)** - 予測重鎖CDR2アミノ酸配列

WMDPNSGNTGYAQKFQG

SEQ ID NO 129: 組換え型 **5.948.1 (H100Y)** - 重鎖CDR3ヌクレオチド配列
GGCTACTATGATAGTGATGGTTATTACTCCTTCTCCGGTATGGACGTC

SEQ ID NO 130: 組換え型 **5.948.1 (H100Y)** - 予測重鎖CDR3アミノ酸配列

GYYDSDGYYSFSGMDV

SEQ ID NO 131: 組換え型 **5.948.1 (H100Y)** - 完全長の軽鎖ヌクレオチド配列
GATATTGTGATGACTCAGTCTCCACTCTCCCTGCCCGTCACCCCTGGAGAGCCGGCCTCCATCTCCT
GTAGGTCTAGTCAGAGCCTCCTGCATAGGAATGGATACAACTACTTGGATTGGTACCTGCAGAAGCC
AGGGCAGTCTCCACAGCTCCTGATCTATTTGGGTTCTAATCGGGCCTCCGGGGTCCCTGACAGGTT
CAGTGGCAGTGGATCAGGCACAGATTTTACACTGAAAATCAGCAGAGTGGAGGCTGAGGATGTTGG
GGTTTATTACTGCATGCAAGCTCTACAAACTCCTCCGGCCACTTTCGGCGGAGGGACCAAGGTGGA
GATCAAAcgaactgtggctgcaccatctgtcttcatcttcccgccatctgatgagcagttgaaatctggaactgcctctgttgtgtgcctgctgaataa
cttctatcccagagaggccaaagtacagtggaaggtggataacgccctccaatcgggtaactcccaggagagtgtcacagagcaggacagcaa
ggacagcacctacagcctcagcagcaccctgacgctgagcaaagcagactacgagaaacacaaagtctacgcctgcgaagtcacccatcagg
gcctgagctcgcccgtcacaaagagcttcaacaggggagagtgt

SEQ ID NO 132: 組換え型 **5.948.1 (H100Y)** - 予測完全長の軽鎖アミノ酸配列

DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLLHRNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPDRFSGS
GSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPPATFGGGTKVEIKrtvaapsvfifppsdeqlksgtasvvcllnnfypreakv
qwkvdnalqsgnsqesvteqdskdstyslssttltlskadyekhkvyacevthqglsspvtksfnrgec

SEQ ID NO 133: 組換え型 **5.948.1 (H100Y)** - 軽鎖可変ドメインヌクレオチド配列
GATATTGTGATGACTCAGTCTCCACTCTCCCTGCCCGTCACCCCTGGAGAGCCGGCCTCCATCTCCT
GTAGGTCTAGTCAGAGCCTCCTGCATAGGAATGGATACAACTACTTGGATTGGTACCTGCAGAAGCC
AGGGCAGTCTCCACAGCTCCTGATCTATTTGGGTTCTAATCGGGCCTCCGGGGTCCCTGACAGGTT
CAGTGGCAGTGGATCAGGCACAGATTTTACACTGAAAATCAGCAGAGTGGAGGCTGAGGATGTTGG
GGTTTATTACTGCATGCAAGCTCTACAAACTCCTCCGGCCACTTTCGGCGGAGGGACCAAGGTGGA
GATCAAA

SEQ ID NO 134: 組換え型 **5.948.1 (H100Y)** - 予測軽鎖可変ドメインアミノ酸配列

DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLLHRNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPDRFSGS
GSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPPATFGGGTKVEIK

SEQ ID NO 135: 組換え型 **5.948.1 (H100Y) -** 軽鎖CDR1ヌクレオチド配列
AGGTCTAGTCAGAGCCTCCTGCATAGGAATGGATACAACTACTTGGAT

SEQ ID NO 136: 組換え型 **5.948.1 (H100Y) -** 予測軽鎖CDR1アミノ酸配列
RSSQSLLHRNGYNYLD

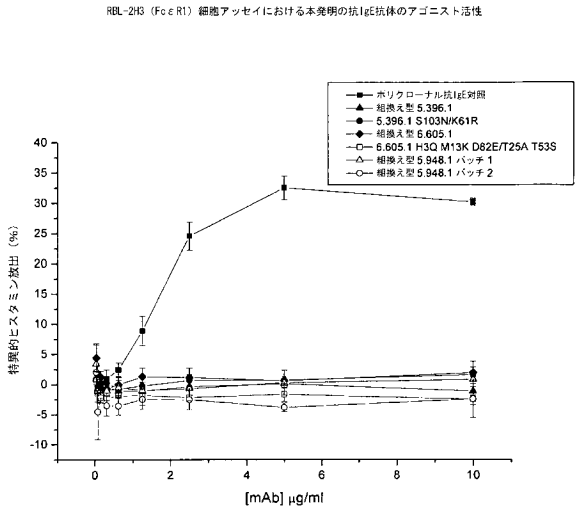
SEQ ID NO 137: 組換え型 **5.948.1 (H100Y) -** 軽鎖CDR2ヌクレオチド配列
TTGGGTTCTAATCGGGCCTCC

SEQ ID NO 138: 組換え型 **5.948.1 (H100Y) -** 予測軽鎖CDR2アミノ酸配列
LGSNRAS

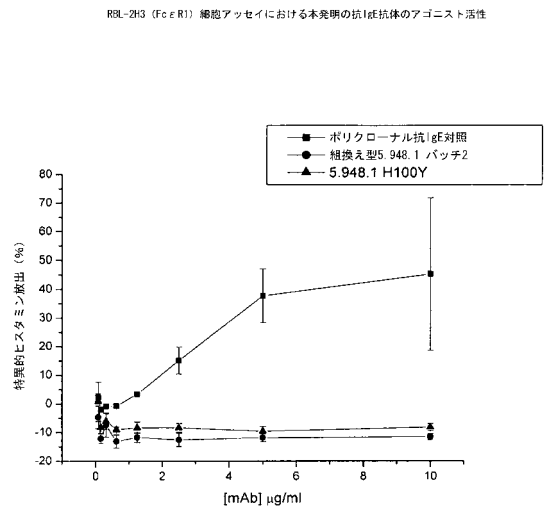
SEQ ID NO 139: 組換え型 **5.948.1 (H100Y) -** 軽鎖CDR3ヌクレオチド配列
ATGCAAGCTCTACAAACTCCTCCGGCCACT

SEQ ID NO 140: 組換え型 **5.948.1 (H100Y) -** 予測軽鎖CDR3アミノ酸配列
MQALQTPPAT

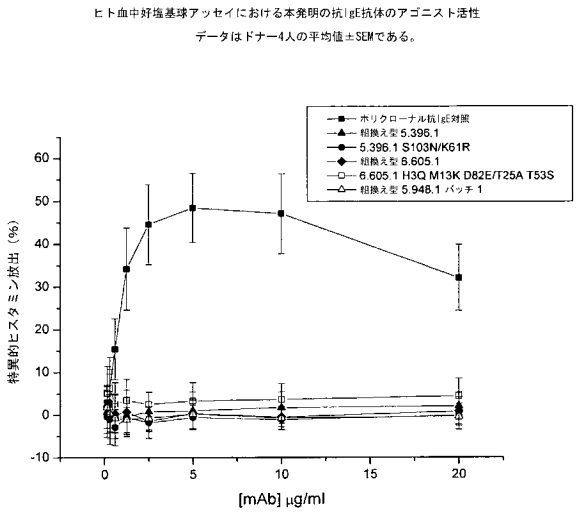
【図１】



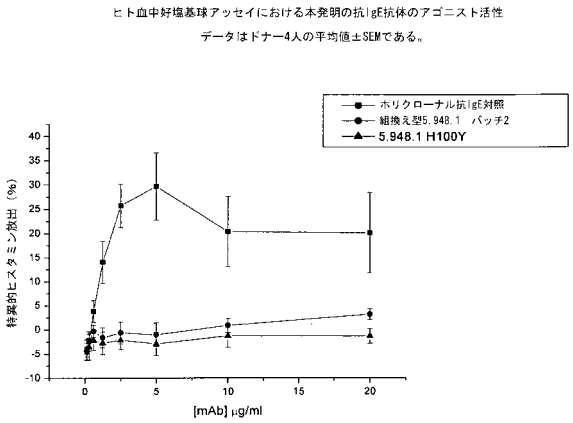
【図２】



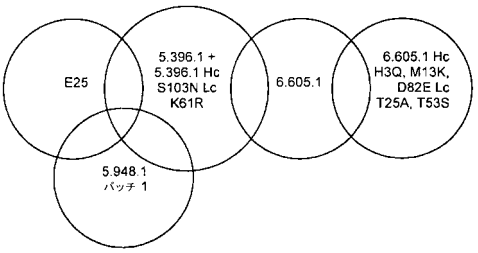
【図３】



【図４】



【図５】



【配列表】

2010532158000001.app

【手続補正書】

【提出日】平成21年12月2日(2009.12.2)

【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】

以下からなる群より選択される少なくとも一つの追加の特性を有する、ヒトIgEに対して向けられるヒトモノクローナル抗体またはその抗原結合部分：

a）ヒトFcεR1をトランスフェクトしたRBL-2H3細胞株を用いるIgE細胞結合アッセイの低減能によって測定した場合に、0.5μg/mLまたはそれ未満のIC_{50}を有する；

b）ヒトFcεR1をトランスフェクトしたRBL-2H3細胞株のIgE媒介脱顆粒の阻害能によって測定した場合に、0.5μg/mLまたはそれ未満のIC_{50}を有する；

c）受容体結合IgEとクロスリンクせず、かつヒトIgEと共に培養したRBL-2H3（FcεR1）細胞のIgE依存的脱顆粒を刺激しない；

d）受容体結合IgEとクロスリンクせず、かつヒト血中好塩基球のIgE依存的脱顆粒を刺激しない；

e）ヒトIgA、IgG1、およびIgG3と比較してIgEに関して非常に選択的である；

f）表面プラズモン共鳴によって測定した場合に、15 nMまたはそれ未満の親和性定数K_Dで、ヒトIgEの完全長に結合する；

g）表面プラズモン共鳴によって測定した場合に2×10^{-4} s^{-1}またはそれより小さいヒト

IgEに対するオフレート（kOff）を有する；および
h）組換え型5.396.1；5.396.1 Hc-S103N Lc-K61R；組換え型6.605.1；6.605.1 (H3Q,M13K,D82E-T25A,T53S)；組換え型5.948.1、および5.948.1 H100Yからなる群より選択される抗体として、ヒトIgEの同じエピトープに結合する。
【請求項２】
抗体が約0.1～30μg/mLの$IC_{25\ ng/mL}$（100～5000 ng/mL）を有し、$IC_{25\ ng/mL}$（100～5000 ng/mL）が血清試料中の遊離のIgE濃度を約100～5000 ng/mLの範囲の初回濃度から約25 ng/mLの濃度まで低減するために必要なインビトロ抗体濃度として定義される、ヒトIgEに対して向けられる単離されたヒト抗体またはその抗原結合部分。
【請求項３】
抗体が約1～30μg/mLの$IC_{25ng/mL}$（500～1500 ng/mL）を有し、$IC_{25ng/mL}$（500～1500 ng/mL）が血清試料中の遊離のIgE濃度を約500～1500 ng/mLの範囲の初回濃度から約25 ng/mLの濃度まで低減するために必要なインビトロ抗体濃度として定義される、請求項2記載の抗体またはその部分。
【請求項４】
抗体が、SEQ ID NO：10、30、50、70、90、および130からなる群より選択される配列を有するH-CDR3を含む、前記請求項のいずれか一項記載の抗体またはその部分。
【請求項５】
抗体が以下からなる群より選択される、前記請求項のいずれか一項記載の抗体またはその部分：
－SEQ ID NO：6、8、および10の配列をそれぞれ有するH-CDR（H-CDR1、H-CDR2、H-CDR3）のH-CDRの組と、SEQ ID NO：16、18、および20の配列をそれぞれ有するL-CDR（L-CDR1、L-CDR2、L-CDR3）のL-CDRの組とを含む抗体；
－SEQ ID NO：26、28、および30の配列をそれぞれ有するH-CDR（H-CDR1、H-CDR2、H-CDR3）のH-CDRの組と、SEQ ID NO：36、38、および40の配列をそれぞれ有するL-CDR（L-CDR1、L-CDR2、L-CDR3）のL-CDRの組とを含む抗体；
－SEQ ID NO：46、48、および50の配列をそれぞれ有するH-CDR（H-CDR1、H-CDR2、H-CDR3）のH-CDRの組と、SEQ ID NO：56、58、および60の配列をそれぞれ有するL-CDR（L-CDR1、L-CDR2、L-CDR3）のL-CDRの組とを含む抗体；
－SEQ ID NO：66、68、および70の配列をそれぞれ有するH-CDR（H-CDR1、H-CDR2、H-CDR3）のH-CDRの組と、SEQ ID NO：76、78、および80の配列をそれぞれ有するL-CDR（L-CDR1、L-CDR2、L-CDR3）のL-CDRの組とを含む抗体；
－SEQ ID NO：86、88、および90の配列をそれぞれ有するH-CDR（H-CDR1、H-CDR2、H-CDR3）のH-CDRの組と、SEQ ID NO：96、98、および100の配列をそれぞれ有するL-CDR（L-CDR1、L-CDR2、L-CDR3）のL-CDRの組とを含む抗体；および
－SEQ ID NO：126、128、および130の配列をそれぞれ有するH-CDR（H-CDR1、H-CDR2、H-CDR3）のH-CDRの組と、SEQ ID NO：136、138、および140の配列をそれぞれ有するL-CDR（L-CDR1、L-CDR2、L-CDR3）のL-CDRの組とを含む抗体。
【請求項６】
抗体がIgG1またはIgG2サブタイプである、前記請求項のいずれか一項記載の抗体またはその部分。
【請求項７】
抗体が以下からなる群より選択される、前記請求項のいずれか一項記載の抗体またはその部分：
－SEQ ID NO：4の配列を有するH-可変ドメインと、SEQ ID NO：14の配列を有するL-可変ドメインとを含む抗体；
－SEQ ID NO：24の配列を有するH-可変ドメインと、SEQ ID NO：34の配列を有するL-可変ドメインとを含む抗体；
－SEQ ID NO：44の配列を有するH-可変ドメインと、SEQ ID NO：54の配列を有するL-可変ドメインとを含む抗体；

－SEQ ID NO：64の配列を有するH-可変ドメインと、SEQ ID NO：74の配列を有するL-可変ドメインとを含む抗体；
－SEQ ID NO：84の配列を有するH-可変ドメインと、SEQ ID NO：94の配列を有するL-可変ドメインとを含む抗体；および
－SEQ ID NO：124の配列を有するH-可変ドメインと、SEQ ID NO：134の配列を有するL-可変ドメインとを含む抗体。
【請求項８】
抗体が以下からなる群より選択される、前記請求項のいずれか一項記載の抗体またはその部分：
－ SEQ ID NO：2の配列を有するH-鎖と、SEQ ID NO：12の配列を有するL-鎖とを含む抗体；
－ SEQ ID NO：22の配列を有するH-鎖と、SEQ ID NO：32の配列を有するL-鎖とを含む抗体；
－ SEQ ID NO：42の配列を有するH-鎖と、SEQ ID NO：52の配列を有するL-鎖とを含む抗体；
－ SEQ ID NO：62の配列を有するH-鎖と、SEQ ID NO：72の配列を有するL-鎖とを含む抗体；
－ SEQ ID NO：82の配列を有するH-鎖と、SEQ ID NO：92の配列を有するL-鎖とを含む抗体；および
－ SEQ ID NO：122の配列を有するH-鎖と、SEQ ID NO：132の配列を有するL-鎖とを含む抗体。
【請求項９】
抗体が以下からなる群より選択される、前記請求項のいずれか一項記載の抗体またはその部分：
－SEQ ID NO：1の核酸配列によってコードされるH-鎖配列と、SEQ ID NO：11の核酸配列によってコードされるL-鎖配列とを含む抗体；
－SEQ ID NO：21の核酸配列によってコードされるH-鎖配列と、SEQ ID NO：31の核酸配列によってコードされるL-鎖配列とを含む抗体；
－SEQ ID NO：41の核酸配列によってコードされるH-鎖配列と、SEQ ID NO：51の核酸配列によってコードされるL-鎖配列とを含む抗体；
－SEQ ID NO：61の核酸配列によってコードされるH-鎖配列と、SEQ ID NO：71の核酸配列によってコードされるL-鎖配列とを含む抗体；
－SEQ ID NO：81の核酸配列によってコードされるH-鎖配列と、SEQ ID NO：91の核酸配列によってコードされるL-鎖配列とを含む抗体；および
－SEQ ID NO：121の核酸配列によってコードされるH-鎖配列と、SEQ ID NO：131の核酸配列によってコードされるL-鎖配列とを含む抗体。
【請求項１０】
1、2、3、4、5、6、7、8、9、または10のアミノ酸置換によって前記抗体またはその部分とは異なる、前記請求項のいずれか一項記載の抗体またはその部分の変種。
【請求項１１】
前記請求項のいずれか一項記載の抗体またはその部分の鎖の一つをコードする核酸配列。
【請求項１２】
請求項11記載の核酸配列を含むベクター。
【請求項１３】
請求項1～10のいずれか一項記載の抗体またはその部分の鎖の一つを発現するのに適したベクター。
【請求項１４】
請求項1～10のいずれか一項記載の抗体またはその部分の鎖の一つを発現する細胞。
【請求項１５】

請求項14記載の細胞を培養する段階と、抗体またはその部分を回収する段階とを含む、請求項1～10のいずれか一項記載の抗体またはその部分を作製するための方法。

【請求項１６】

薬剤として用いるための、請求項1～10のいずれか一項記載の抗体またはその部分。

【請求項１７】

喘息、アレルギー性喘息、アレルギー性鼻炎、および食物アレルギーからなる群より選択されるIgE媒介障害の処置のための、請求項1～10のいずれか一項記載の抗体またはその部分。

【請求項１８】

請求項1～10のいずれか一項記載の抗体またはその部分を含む薬学的組成物。

【請求項１９】

喘息、アレルギー性喘息、アレルギー性鼻炎、および食物アレルギーからなる群より選択されるIgE媒介障害の処置のための、前記請求項に記載の薬学的組成物。

【請求項２０】

喘息、アレルギー性喘息、アレルギー性鼻炎、および食物アレルギーからなる群より選択されるIgE媒介障害を処置するための薬剤の製造における、請求項1～10のいずれか一項記載の抗体またはその部分の使用。

【請求項２１】

SEQ ID NO： 1、3、11、13、21、23、31、33、41、43、51、53、61、63、71、73、81、83、91、93、101、103、105、107、109、111、121、123、131、および133からなる群より選択される核酸配列。

【請求項２２】

以下からなる群より選択される、ヒトIgEに対して向けられる抗体またはその抗原結合部分：

－SEQ ID NO：4の配列を有するH-可変ドメインと、SEQ ID NO：14の配列を有するL-可変ドメインとを含む抗体；

－SEQ ID NO：24の配列を有するH-可変ドメインと、SEQ ID NO：34の配列を有するL-可変ドメインとを含む抗体；

－SEQ ID NO：44の配列を有するH-可変ドメインと、SEQ ID NO：54の配列を有するL-可変ドメインとを含む抗体；

－SEQ ID NO：64の配列を有するH-可変ドメインと、SEQ ID NO：74の配列を有するL-可変ドメインとを含む抗体；

－SEQ ID NO：84の配列を有するH-可変ドメインと、SEQ ID NO：94の配列を有するL-可変ドメインとを含む抗体；および

－SEQ ID NO：124の配列を有するH-可変ドメインと、SEQ ID NO：134の配列を有するL-可変ドメインとを含む抗体。

【請求項２３】

SEQ ID NO：2の配列を有するH-鎖と、SEQ ID NO：12の配列を有するL-鎖とを含む、ヒトIgEに対して向けられる抗体。

【請求項２４】

SEQ ID NO：22の配列を有するH-鎖と、SEQ ID NO：32の配列を有するL-鎖とを含む、ヒトIgEに対して向けられる抗体。

【請求項２５】

SEQ ID NO：42の配列を有するH-鎖と、SEQ ID NO：52の配列を有するL-鎖とを含む、ヒトIgEに対して向けられる抗体。

【請求項２６】

SEQ ID NO：62の配列を有するH-鎖と、SEQ ID NO：72の配列を有するL-鎖とを含む、ヒトIgEに対して向けられる抗体。

【請求項２７】

SEQ ID NO：82の配列を有するH-鎖と、SEQ ID NO：92の配列を有するL-鎖とを含む、ヒ

トIgEに対して向けられる抗体。
【請求項２８】
SEQ ID NO：122の配列を有するH-鎖と、SEQ ID NO：132の配列を有するL-鎖とを含む、ヒトIgEに対して向けられる抗体。
【請求項２９】
ブダペスト条約に従って2006年11月07日にAmerican Type Culture Collection (ATCC), P.O. Box 1549, Manassas, VA 20108, USAに寄託された、ATCC寄託番号PTA-7977のインサートによってコードされるH-鎖と、ATCC寄託番号PTA-7982のインサートによってコードされるL-鎖とを含む、ヒトIgEに対して向けられる抗体。
【請求項３０】
ブダペスト条約に従って2006年11月07日にAmerican Type Culture Collection (ATCC), P.O. Box 1549, Manassas, VA 20108, USAに寄託された、ATCC寄託番号PTA-7981のインサートによってコードされるH-鎖と、ATCC寄託番号PTA-7980のインサートによってコードされるL-鎖とを含む、ヒトIgEに対して向けられる抗体。
【請求項３１】
ブダペスト条約に従って2006年11月07日にAmerican Type Culture Collection (ATCC), P.O. Box 1549, Manassas, VA 20108, USAに寄託された、ATCC寄託番号PTA-7985のインサートによってコードされるH-鎖と、ATCC寄託番号PTA-7984のインサートによってコードされるL-鎖とを含む、ヒトIgEに対して向けられる抗体。
【請求項３２】
ブダペスト条約に従って2006年11月07日にAmerican Type Culture Collection (ATCC), P.O. Box 1549, Manassas, VA 20108, USAに寄託された、ATCC寄託番号PTA-7983のインサートによってコードされるH-鎖と、ATCC寄託番号PTA-7978のインサートによってコードされるL-鎖とを含む、ヒトIgEに対して向けられる抗体。
【請求項３３】
ブダペスト条約に従って2006年11月07日にAmerican Type Culture Collection (ATCC), P.O. Box 1549, Manassas, VA 20108, USAに寄託された、ATCC寄託番号PTA-7979のインサートによってコードされるH-鎖と、ATCC寄託番号PTA-7986のインサートによってコードされるL-鎖とを含む、ヒトIgEに対して向けられる抗体。
【請求項３４】
薬剤として用いるための請求項22～33のいずれか一項記載の抗体。
【請求項３５】
喘息、アレルギー性喘息、アレルギー性鼻炎、および食物アレルギーからなる群より選択されるIgE媒介障害を処置するための、請求項22～33のいずれか一項記載の抗体。
【請求項３６】
請求項22～33のいずれか一項記載の抗体または該抗体の抗原結合部分を含む薬学的組成物。
【請求項３７】
喘息、アレルギー性喘息、アレルギー性鼻炎、および食物アレルギーからなる群より選択されるIgE媒介障害を処置するための、前記請求項に記載の薬学的組成物。
【請求項３８】
喘息、アレルギー性喘息、アレルギー性鼻炎、および食物アレルギーからなる群より選択されるIgE媒介障害を処置するための薬剤の製造における、請求項22～33のいずれか一項記載の抗体または該抗体の抗原結合部分の使用。
【請求項３９】
請求項22～33のいずれか一項記載の抗体または該抗体の抗原結合部分の鎖の一つをコードする核酸配列。
【請求項４０】
請求項39記載の核酸配列を含むベクター。
【請求項４１】

請求項22～33のいずれか一項記載の抗体または該抗体の抗原結合部分の鎖の一つを発現するのに適したベクター。
【請求項４２】
請求項22～33のいずれか一項記載の抗体または該抗体の抗原結合部分の鎖の一つを発現する細胞。
【請求項４３】
請求項42記載の細胞を培養する段階と、抗体またはその部分を回収する段階とを含む、請求項22～33のいずれか一項記載の抗体または該抗体の抗原結合部分を作製するための方法。
【請求項４４】
請求項1～10または22～33のいずれか一項記載の抗IgE抗体または抗原結合部分をIgEに接触させる段階を含む、FcεR1に対するIgEの結合を低減させるための方法。
【請求項４５】
請求項1～10または22～33のいずれか一項記載の抗IgE抗体またはその抗原結合部分を細胞に接触させる段階を含む、細胞によるIgE媒介脱顆粒を低減させるための方法。
【手続補正２】
【補正対象書類名】明細書
【補正対象項目名】００６２
【補正方法】変更
【補正の内容】
【００６２】
もう一つの局面において、本発明は、喘息、アレルギー性喘息、アレルギー性鼻炎、および食物アレルギーからなる群より選択されるIgE媒介障害を処置するための薬剤の製造における先に記載した抗体の使用を提供する。
[請求項101]
以下からなる群より選択される少なくとも一つの追加の特性を有する、ヒトIgEに対して向けられるヒトモノクローナル抗体またはその抗原結合部分、またはその抗原結合部分:
a)ヒトFcεR1をトランスフェクトしたRBL-2H3細胞株を用いるIgE細胞結合アッセイの低減能によって測定した場合に、0.5μg/mLまたはそれ未満のIC_{50}を有する;
b)ヒトFcεR1をトランスフェクトしたRBL-2H3細胞株のIgE媒介脱顆粒の阻害能によって測定した場合に、0.5μg/mLまたはそれ未満のIC_{50}を有する;
c)受容体結合IgEとクロスリンクせず、かつヒトIgEと共に培養したRBL-2H3(FcεR1)細胞のIgE依存的脱顆粒を刺激しない;
d)受容体結合IgEとクロスリンクせず、かつヒト血中好塩基球のIgE依存的脱顆粒を刺激しない;
e)ヒトIgA、IgG1、およびIgG3と比較してIgEに関して非常に選択的である;
f)表面プラズモン共鳴によって測定した場合に、15 nMまたはそれ未満の親和性定数K_Dで、ヒトIgEの完全長に結合する;
g)表面プラズモン共鳴によって測定した場合に2×10^{-4} s^{-1}またはそれより小さいヒトIgEに対するオフレート(kOff)を有する;および
h)組換え型5.396.1;5.396.1 Hc-S103N Lc-K61R;組換え型6.605.1;6.605.1 (H3Q,M13K,D82E-T25A,T53S);組換え型5.948.1、および5.948.1 H100Yからなる群より選択される抗体として、ヒトIgEの同じエピトープに結合する。
[請求項102]
抗体が約0.1～30μg/mLの$IC_{25\ ng/mL}$(100～5000 ng/mL)を有し、$IC_{25\ ng/mL}$(100～5000 ng/mL)が血清試料中の遊離のIgE濃度を約100～5000 ng/mLの範囲の初回濃度から約25 ng/mLの濃度まで低減するために必要なインビトロ抗体濃度として定義される、ヒトIgEに対して向けられる単離されたヒト抗体、またはその抗原結合部分。
[請求項103]
抗体が約1～30μg/mLの$IC_{25ng/mL}$(500～1500 ng/mL)を有し、$IC_{25ng/mL}$(500～1500 ng/m

L)が血清試料中の遊離のIgE濃度を約500～1500 ng/mLの範囲の初回濃度から約25 ng/mLの濃度まで低減するために必要なインビトロ抗体濃度として定義される、請求項102記載の抗体またはその部分。

[請求項104]

抗体が、SEQ ID NO:10、30、50、70、90、および130からなる群より選択される配列を有するH-CDR3を含む、前記請求項のいずれか一項記載の抗体またはその部分。

[請求項105]

抗体が以下からなる群より選択される、前記請求項のいずれか一項記載の抗体またはその部分:

-SEQ ID NO:6、8、10の配列をそれぞれ有するH-CDR(H-CDR1、H-CDR2、H-CDR3)のH-CDRの組と、SEQ ID NO:16、18、20の配列をそれぞれ有するL-CDR(L-CDR1、L-CDR2、L-CDR3)のL-CDRの組とを含む抗体;

-SEQ ID NO:26、28、30の配列をそれぞれ有するH-CDR(H-CDR1、H-CDR2、H-CDR3)のH-CDRの組と、SEQ ID NO:36、38、40の配列をそれぞれ有するL-CDR(L-CDR1、L-CDR2、L-CDR3)のL-CDRの組とを含む抗体;

-SEQ ID NO:46、48、50の配列をそれぞれ有するH-CDR(H-CDR1、H-CDR2、H-CDR3)のH-CDRの組と、SEQ ID NO:56、58、60の配列をそれぞれ有するL-CDR(L-CDR1、L-CDR2、L-CDR3)のL-CDRの組とを含む抗体;

-SEQ ID NO:66、68、70の配列をそれぞれ有するH-CDR(H-CDR1、H-CDR2、H-CDR3)のH-CDRの組と、SEQ ID NO:76、78、80の配列をそれぞれ有するL-CDR(L-CDR1、L-CDR2、L-CDR3)のL-CDRの組とを含む抗体;

-SEQ ID NO:86、88、90の配列をそれぞれ有するH-CDR(H-CDR1、H-CDR2、H-CDR3)のH-CDRの組と、SEQ ID NO:96、98、100の配列をそれぞれ有するL-CDR(L-CDR1、L-CDR2、L-CDR3)のL-CDRの組とを含む抗体;および

-SEQ ID NO:126、128、130の配列をそれぞれ有するH-CDR(H-CDR1、H-CDR2、H-CDR3)のH-CDRの組と、SEQ ID NO:136、138、140の配列をそれぞれ有するL-CDR(L-CDR1、L-CDR2、L-CDR3)のL-CDRの組とを含む抗体。

[請求項106]

抗体がIgG1またはIgG2サブタイプである、前記請求項のいずれか一項記載の抗体またはその部分。

[請求項107]

抗体が以下からなる群より選択される、前記請求項のいずれか一項記載の抗体またはその部分:

-SEQ ID NO:4の配列を有するH-可変ドメインと、SEQ ID NO:14の配列を有するL-可変ドメインとを含む抗体;

-SEQ ID NO:24の配列を有するH-可変ドメインと、SEQ ID NO:34の配列を有するL-可変ドメインとを含む抗体;

-SEQ ID NO:44の配列を有するH-可変ドメインと、SEQ ID NO:54の配列を有するL-可変ドメインとを含む抗体;

-SEQ ID NO:64の配列を有するH-可変ドメインと、SEQ ID NO:74の配列を有するL-可変ドメインとを含む抗体;

-SEQ ID NO:84の配列を有するH-可変ドメインと、SEQ ID NO:94の配列を有するL-可変ドメインとを含む抗体;および

-SEQ ID NO:124の配列を有するH-可変ドメインと、SEQ ID NO:134の配列を有するL-可変ドメインとを含む抗体。

[請求項108]

抗体が以下からなる群より選択される、前記請求項のいずれか一項記載の抗体またはその部分:

- SEQ ID NO:2の配列を有するH-鎖と、SEQ ID NO:12の配列を有するL-鎖とを含む抗体;

- SEQ ID NO:22の配列を有するH-鎖と、SEQ ID NO:32の配列を有するL-鎖とを含む抗体;

- SEQ ID NO:42の配列を有するH-鎖と、SEQ ID NO:52の配列を有するL-鎖とを含む抗体;
- SEQ ID NO:62の配列を有するH-鎖と、SEQ ID NO:72の配列を有するL-鎖とを含む抗体;
- SEQ ID NO:82の配列を有するH-鎖と、SEQ ID NO:92の配列を有するL-鎖とを含む抗体;および
- SEQ ID NO:122の配列を有するH-鎖と、SEQ ID NO:132の配列を有するL-鎖とを含む抗体。

[請求項109]
抗体が以下からなる群より選択される、前記請求項のいずれか一項記載の抗体またはその部分:
-SEQ ID NO:1の核酸配列によってコードされるH-鎖配列と、SEQ ID NO:11の核酸配列によってコードされるL-鎖配列とを含む抗体;
-SEQ ID NO:21の核酸配列によってコードされるH-鎖配列と、SEQ ID NO:31の核酸配列によってコードされるL-鎖配列とを含む抗体;
-SEQ ID NO:41の核酸配列によってコードされるH-鎖配列と、SEQ ID NO:51の核酸配列によってコードされるL-鎖配列とを含む抗体;
-SEQ ID NO:61の核酸配列によってコードされるH-鎖配列と、SEQ ID NO:71の核酸配列によってコードされるL-鎖配列とを含む抗体;
-SEQ ID NO:81の核酸配列によってコードされるH-鎖配列と、SEQ ID NO:91の核酸配列によってコードされるL-鎖配列とを含む抗体;および
-SEQ ID NO:121の核酸配列によってコードされるH-鎖配列と、SEQ ID NO:131の核酸配列によってコードされるL-鎖配列とを含む抗体。

[請求項110]
1、2、3、4、5、6、7、8、9、または10のアミノ酸置換によって前記抗体またはその部分とは異なる、前記請求項のいずれか一項記載の抗体またはその部分の変種。

[請求項111]
前記請求項のいずれか一項記載の抗体またはその部分の鎖の一つをコードする核酸配列。

[請求項112]
請求項111記載の核酸配列を含むベクター。

[請求項113]
請求項101～110のいずれか一項記載の抗体またはその部分の鎖の一つを発現するのに適したベクター。

[請求項114]
請求項101～110のいずれか一項記載の抗体またはその部分の鎖の一つを発現する細胞。

[請求項115]
請求項114記載の細胞を培養する段階と、抗体またはその部分を回収する段階とを含む、請求項101～110のいずれか一項記載の抗体またはその部分を作製するための方法。

[請求項116]
薬剤として用いるための、請求項101～110のいずれか一項記載の抗体またはその部分。

[請求項117]
喘息、アレルギー性喘息、アレルギー性鼻炎、および食物アレルギーからなる群より選択されるIgE媒介障害の処置のための、請求項101～110のいずれか一項記載の抗体またはその部分。

[請求項118]
請求項101～110のいずれか一項記載の抗体またはその部分を含む薬学的組成物。

[請求項119]
喘息、アレルギー性喘息、アレルギー性鼻炎、および食物アレルギーからなる群より選択されるIgE媒介障害の処置のための、前記請求項に記載の薬学的組成物。

[請求項120]
請求項101～110のいずれか一項記載の抗体またはその部分の治療的有効量を対象に投与

する段階を含む、それを必要とする対象における喘息、アレルギー性喘息、アレルギー性鼻炎、および食物アレルギーからなる群より選択されるIgE媒介障害を処置するための方法。

[請求項121]

喘息、アレルギー性喘息、アレルギー性鼻炎、および食物アレルギーからなる群より選択されるIgE媒介障害を処置するための薬剤の製造における、請求項101～110のいずれか一項記載の抗体またはその部分の使用。

[請求項122]

SEQ ID NO: 1、3、11、13、21、23、31、33、41、43、51、53、61、63、71、73、81、83、91、93、101、103、105、107、109、111、121、123、131、および133からなる群より選択される核酸配列。

[請求項123]

以下からなる群より選択される、ヒトIgEに対して向けられる抗体:

-SEQ ID NO:4の配列を有するH-可変ドメインと、SEQ ID NO:14の配列を有するL-可変ドメインとを含む抗体;

-SEQ ID NO:24の配列を有するH-可変ドメインと、SEQ ID NO:34の配列を有するL-可変ドメインとを含む抗体;

-SEQ ID NO:44の配列を有するH-可変ドメインと、SEQ ID NO:54の配列を有するL-可変ドメインとを含む抗体;

-SEQ ID NO:64の配列を有するH-可変ドメインと、SEQ ID NO:74の配列を有するL-可変ドメインとを含む抗体;

-SEQ ID NO:84の配列を有するH-可変ドメインと、SEQ ID NO:94の配列を有するL-可変ドメインとを含む抗体;および

-SEQ ID NO:124の配列を有するH-可変ドメインと、SEQ ID NO:134の配列を有するL-可変ドメインとを含む抗体。

[請求項124]

SEQ ID NO:2の配列を有するH-鎖と、SEQ ID NO:12の配列を有するL-鎖とを含む、ヒトIgEに対して向けられる抗体。

[請求項125]

SEQ ID NO:22の配列を有するH-鎖と、SEQ ID NO:32の配列を有するL-鎖とを含む、ヒトIgEに対して向けられる抗体。

[請求項126]

SEQ ID NO:42の配列を有するH-鎖と、SEQ ID NO:52の配列を有するL-鎖とを含む、ヒトIgEに対して向けられる抗体。

[請求項127]

SEQ ID NO:62の配列を有するH-鎖と、SEQ ID NO:72の配列を有するL-鎖とを含む、ヒトIgEに対して向けられる抗体。

[請求項128]

SEQ ID NO:82の配列を有するH-鎖と、SEQ ID NO:92の配列を有するL-鎖とを含む、ヒトIgEに対して向けられる抗体。

[請求項129]

SEQ ID NO:122の配列を有するH-鎖と、SEQ ID NO:132の配列を有するL-鎖とを含む、ヒトIgEに対して向けられる抗体。

[請求項130]

ブダペスト条約に従って2006年11月07日にAmerican Type Culture Collection (ATCC), P.O. Box 1549, Manassas, VA 20108, USAに寄託された、ATCC寄託番号PTA-7977のインサートによってコードされるH-鎖と、ATCC寄託番号PTA-7982のインサートによってコードされるL-鎖とを含む、ヒトIgEに対して向けられる抗体。

[請求項131]

ブダペスト条約に従って2006年11月07日にAmerican Type Culture Collection (ATCC),

P.O. Box 1549, Manassas, VA 20108, USAに寄託された、ATCC寄託番号PTA-7981のインサートによってコードされるH-鎖と、ATCC寄託番号PTA-7980のインサートによってコードされるL-鎖とを含む、ヒトIgEに対して向けられる抗体。
[請求項132]
ブダペスト条約に従って2006年11月07日にAmerican Type Culture Collection (ATCC), P.O. Box 1549, Manassas, VA 20108, USAに寄託された、ATCC寄託番号PTA-7985のインサートによってコードされるH-鎖と、ATCC寄託番号PTA-7984のインサートによってコードされるL-鎖とを含む、ヒトIgEに対して向けられる抗体。
[請求項133]
ブダペスト条約に従って2006年11月07日にAmerican Type Culture Collection (ATCC), P.O. Box 1549, Manassas, VA 20108, USAに寄託された、ATCC寄託番号PTA-7983のインサートによってコードされるH-鎖と、ATCC寄託番号PTA-7978のインサートによってコードされるL-鎖とを含む、ヒトIgEに対して向けられる抗体。
[請求項134]
ブダペスト条約に従って2006年11月07日にAmerican Type Culture Collection (ATCC), P.O. Box 1549, Manassas, VA 20108, USAに寄託された、ATCC寄託番号PTA-7979のインサートによってコードされるH-鎖と、ATCC寄託番号PTA-7986のインサートによってコードされるL-鎖とを含む、ヒトIgEに対して向けられる抗体。
[請求項135]
薬剤として用いるための請求項123～134のいずれか一項記載の抗体。
[請求項136]
喘息、アレルギー性喘息、アレルギー性鼻炎、および食物アレルギーからなる群より選択されるIgE媒介障害を処置するための、請求項123～134のいずれか一項記載の抗体。
[請求項137]
請求項123～134のいずれか一項記載の抗体を含む薬学的組成物。
[請求項138]
喘息、アレルギー性喘息、アレルギー性鼻炎、および食物アレルギーからなる群より選択されるIgE媒介障害を処置するための、前記請求項に記載の薬学的組成物。
[請求項139]
請求項123～134のいずれか一項記載の抗体の治療的有効量を対象に投与する段階を含む、それを必要とする対象における喘息、アレルギー性喘息、アレルギー性鼻炎、および食物アレルギーからなる群より選択されるIgE媒介障害を処置するための方法。
[請求項140]
喘息、アレルギー性喘息、アレルギー性鼻炎、および食物アレルギーからなる群より選択されるIgE媒介障害を処置するための薬剤の製造における、請求項123～134のいずれか一項記載の抗体の使用。
[請求項141]
請求項123～134のいずれか一項記載の抗体またはその部分の鎖の一つをコードする核酸配列。
[請求項142]
請求項141記載の核酸配列を含むベクター。
[請求項143]
請求項123～134のいずれか一項記載の抗体またはその部分の鎖の一つを発現するのに適したベクター。
[請求項144]
請求項123～134のいずれか一項記載の抗体またはその部分の鎖の一つを発現する細胞。
[請求項145]
請求項143記載の細胞を培養する段階と、抗体またはその部分を回収する段階とを含む、請求項123～134のいずれか一項記載の抗体またはその部分を作製するための方法。
[請求項146]

請求項101～110または123～134のいずれか一項記載の抗IgE抗体または抗原結合部分をIgEに接触させる段階を含む、FcεR1に対するIgEの結合を低減させるための方法。
[請求項147]
請求項101～110または123～134のいずれか一項記載の抗IgE抗体またはその抗原結合部分を細胞に接触させる段階を含む、細胞によるIgE媒介脱顆粒を低減させるための方法。

フロントページの続き

(51)Int.Cl.		FI			テーマコード（参考）
C12N 5/10	*(2006.01)*	C12N	5/00	101	
C12P 21/08	*(2006.01)*	C12P	21/08		
A61K 39/395	*(2006.01)*	A61K	39/395	N	
A61P 11/06	*(2006.01)*	A61P	11/06		
A61P 37/08	*(2006.01)*	A61P	37/08		
A61P 27/16	*(2006.01)*	A61P	27/16		
A61P 29/00	*(2006.01)*	A61P	29/00		
A61P 27/02	*(2006.01)*	A61P	27/02		
A61P 17/00	*(2006.01)*	A61P	17/00		
A61P 1/00	*(2006.01)*	A61P	1/00		
A61P 7/04	*(2006.01)*	A61P	7/04		
A61P 1/04	*(2006.01)*	A61P	1/04		
A61P 17/06	*(2006.01)*	A61P	17/06		

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

(74)代理人 100160923
弁理士 山口 裕孝
(74)代理人 100119507
弁理士 刑部 俊
(74)代理人 100142929
弁理士 井上 隆一
(74)代理人 100148699
弁理士 佐藤 利光
(74)代理人 100128048
弁理士 新見 浩一
(74)代理人 100129506
弁理士 小林 智彦
(74)代理人 100130845
弁理士 渡邉 伸一
(74)代理人 100114340
弁理士 大関 雅人
(74)代理人 100121072
弁理士 川本 和弥
(72)発明者 リュウ ワイ
英国 ケント州 サンドウィッチ ラムズゲート ロード ファイザー グローバル リサーチ アンド ディベロプメント サンドウィッチ ラボラトリーズ
(72)発明者 イエアドン マイク
英国 ケント州 サンドウィッチ ラムズゲート ロード ファイザー グローバル リサーチ アンド ディベロプメント サンドウィッチ ラボラトリーズ
(72)発明者 デ メンデズ イザベル
英国 ケンブリッジシャイアー州 ケンブリッジ グランタ パーク ミルステイン ビルディン

グ　ケンブリッジ　アンチボディ　テクノロジー
(72)発明者　ロガン　アリソン
アメリカ合衆国　コネティカット州　オールド　セイブルック　チェルシー　レーン　３
(72)発明者　キャスパーソン　ゲラルド　エフ.
アメリカ合衆国　ミズーリ州　ボールウィン　クレイモント　ドライブ　３１４
(72)発明者　ラジパル　アルビンド
アメリカ合衆国　ミズーリ州　チェスターフィールド　ファーンクリーク　ドライブ　１５６４４
(72)発明者　モファット　マーク　エー.
アメリカ合衆国　ミズーリ州　セント　ルイス　チロリアン　アベニュー　４９６３
(72)発明者　リャオ　ウェイ
アメリカ合衆国　ミズーリ州　チェスターフィールド　ヒルクレスト　メドウ　ドライブ　１７１４３
(72)発明者　ブラウン　キャロライン
英国　ケント州　サンドウィッチ　ラムスゲート　ロード　ファイザー　グローバル　リサーチ　アンド　ディベロプメント　サンドウィッチ　ラボラトリーズ
(72)発明者　ベヤズ－カブンス　ニューテン
アメリカ合衆国　ミズーリ州　チェスターフィールド　フォックススプリング　ドライブ　８８１　アパートメント　ジェイ
(72)発明者　ディアス－コリエール　ジュディス
アメリカ合衆国　ミズーリ州　マンチェスター　ラ　フェイル　ドライブ　７６９
(72)発明者　ケラーマン　シリド－エイミー
アメリカ合衆国　カリフォルニア州　メンロ　パーク　アルマノー　アベニュー　１０００

Ｆターム(参考) 4B024 AA01 BA44 BA61 CA01
4B064 AG27 CA02 CA05 CA10 CA11 CA19 CA20 CC24 CE12 DA01
4B065 AA01X AA57X AA87X AA92X AA93Y AB01 AB04 AC14 BA02 BA08
BD14 CA44
4C085 AA14 BB35 CC02 DD33
4H045 AA11 AA30 BA09 CA40 DA75 DA76 EA20 FA74 GA26