(19)日本国特許庁(JP)　(12)公開特許公報(A)　(11)特許出願公開番号
特開2015-83010
(P2015-83010A)
(43)公開日　平成27年4月30日(2015.4.30)

(51)Int.Cl.		F I		テーマコード（参考）
C12N 15/09	(2006.01)	C12N	15/00	ZNAA
C07K 16/18	(2006.01)	C07K	16/18	
C12N 1/15	(2006.01)	C12N	1/15	
C12N 1/19	(2006.01)	C12N	1/19	
C12N 1/21	(2006.01)	C12N	1/21	

審査請求 有　請求項の数 1　ＯＬ　外国語出願　（全 84 頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2014-255753 (P2014-255753)
(22)出願日　平成26年12月18日 (2014.12.18)
(62)分割の表示　特願2010-532344 (P2010-532344)の分割
原出願日　平成20年11月7日 (2008.11.7)
(31)優先権主張番号　61/002,253
(32)優先日　平成19年11月7日 (2007.11.7)
(33)優先権主張国　米国 (US)
(31)優先権主張番号　61/191,551
(32)優先日　平成20年9月10日 (2008.9.10)
(33)優先権主張国　米国 (US)

(71)出願人　510122326
セルデックス　セラピューティクス　インコーポレイテッド
アメリカ合衆国　マサチューセッツ　０２４９４－２７２５，　ニーダム，　フォース　アベニュー　１１９
(74)代理人　100102978
弁理士　清水　初志
(74)代理人　100102118
弁理士　春名　雅夫
(74)代理人　100160923
弁理士　山口　裕孝
(74)代理人　100119507
弁理士　刑部　俊

最終頁に続く

(54)【発明の名称】ヒト樹状細胞および上皮細胞２０５（ＤＥＣ－２０５）に結合する抗体

(57)【要約】　（修正有）
【課題】上皮細胞２０５受容体（ＤＥＣ－２０５）に結合する単離モノクローナル抗体並びに関連する抗体ベースの組成物及び分子、該抗体を含む薬学的組成物、並びに抗体を使用するための治療方法及び診断方法の提供。
【解決手段】単離ヒトモノクローナル抗体であって、該抗体が、ヒト樹状細胞及びＤＥＣ－２０５に結合し、（ａ）表面プラズモン共鳴によって決定した場合に少なくとも１０８Ｍ－１の親和定数でヒトＤＥＣ－２０５に結合すること、（ｂ）ＤＥＣ－２０５を発現するヒト樹状細胞への結合後に内在化すること、（ｃ）抗原に対するヒトＣＤ４＋Ｔ細胞応答を生成または増強すること；（ｄ）抗原に対するヒトＣＴＬまたはＮＫＴ応答を生成または増強すること、（ｅ）樹状細胞中の抗原プロセシング区画に局在すること、又は（ｆ）末梢ＣＤ８＋Ｔ細胞寛容を誘導することの（ａ）～（ｆ）の少なくとも１つを示す、単離ヒトモノクローナル抗体。
【選択図】なし

【特許請求の範囲】
【請求項１】
単離ヒトモノクローナル抗体であって、該抗体が、ヒト樹状細胞および上皮細胞２０５受容体（ＤＥＣ－２０５）に結合し、以下の性質：
（ａ）表面プラズモン共鳴によって決定した場合に少なくとも$10^{8}M^{-1}$の親和定数でヒトＤＥＣ－２０５に結合すること；
（ｂ）ＤＥＣ－２０５を発現するヒト樹状細胞への結合後に内在化すること；
（ｃ）抗原に対するヒトＣＤ４＋Ｔ細胞応答を生成または増強すること；
（ｄ）抗原に対するヒトＣＴＬまたはＮＫＴ応答を生成または増強すること；
（ｅ）樹状細胞中の抗原プロセシング区画に局在すること、または
（ｆ）末梢$CD8^{+}$Ｔ細胞寛容を誘導すること
の少なくとも１つを示す、単離ヒトモノクローナル抗体。
【請求項２】
前記ヒトＴ細胞応答が、ＭＨＣクラスＩ経路またはＭＨＣクラスＩＩ経路またはその両方のいずれかによって媒介される、請求項１に記載の抗体。
【請求項３】
ヒトＤＥＣ－２０５の細胞外ドメイン上に存在するエピトープに結合する単離ヒトモノクローナル抗体。
【請求項４】
ヒトＤＥＣ－２０５に結合し、（ａ）ヒト生殖系列V_H３－３３遺伝子を使用し、（ｂ）配列番号９５と比較して配列番号２８、４、１６、４０、５２、７６、および８８のいずれか１つにアミノ酸置換のうちの少なくとも１つを含む重鎖可変領域を含む、単離モノクローナル抗体。
【請求項５】
ヒトＤＥＣ－２０５に結合し、（ａ）ヒト生殖系列Ｏｒｐｈ－Ｃ１６遺伝子を使用し、（ｂ）配列番号９６と比較して配列番号６４および７０のいずれかにアミノ酸置換のうちの少なくとも１つを含む重鎖可変領域を含む、単離モノクローナル抗体。
【請求項６】
前記抗体が、（ａ）ヒト生殖系列ＶＫ３－Ｌ６遺伝子を使用し、配列番号９２と比較して配列番号３４、４６、５８のいずれか１つにアミノ酸置換のうちの少なくとも１つを含み、（ｂ）ヒト生殖系列ＶＫ１－Ｌ４遺伝子を使用し、配列番号９３と比較して配列番号２２または８２にアミノ酸置換のうちの少なくとも１つを含み、（ｃ）ヒト生殖系列ＶＫ１－Ｌ１５遺伝子を使用し、配列番号９４と比較して配列番号１０にアミノ酸置換のうちの少なくとも１つを含む領域からなる群から選択される軽鎖可変領域をさらに含む、請求項４または5に記載の抗体。
【請求項７】
単離モノクローナル抗体であって、前記抗体は、ヒトＤＥＣ－２０５に結合し、
（ｉ）ヒト生殖系列V_H３－３３遺伝子を使用し、配列番号９５と比較して配列番号２８、４、１６、４０、５２、７６、および８８のいずれか１つにアミノ酸置換のうちの少なくとも１つを含むか、
（ｉｉ）ヒト生殖系列Ｏｒｐｈ－Ｃ１６遺伝子を使用し、配列番号９６と比較して配列番号６４および７０のいずれかにアミノ酸置換のうちの少なくとも１つを含む、重鎖可変領域を含み、
前記抗体は、
（ａ）ヒト生殖系列ＶＫ３－Ｌ６遺伝子を使用し、配列番号９２と比較して配列番号３４、４６、５８のいずれか１つにアミノ酸置換のうちの少なくとも１つを含むか、
（ｂ）ヒト生殖系列ＶＫ１－Ｌ４遺伝子を使用し、配列番号９３と比較して配列番号２２または８２にアミノ酸置換のうちの少なくとも１つを含むか、
（ｃ）ヒト生殖系列ＶＫ１－Ｌ１５遺伝子を使用し、配列番号９４と比較して配列番号１０にアミノ酸置換のうちの少なくとも１つを含む、軽鎖可変領域をさらに含む、単離モノ

クローナル抗体。
【請求項８】
単離モノクローナル抗体であって、前記抗体は、ヒトＤＥＣ－２０５に結合し、配列番号２８、４、１６、４０、５２、６４、７０、７６、または８８およびその保存的配列修飾物からなる群から選択される重鎖可変領域ならびに配列番号３４、１０、２２、４６、５８、または８２およびその保存的配列修飾物からなる群から選択される軽鎖可変領域を含む、単離モノクローナル抗体。
【請求項９】
ヒトＤＥＣ－２０５に結合する単離モノクローナル抗体であって、前記抗体は、
ＣＤＲ１配列、ＣＤＲ２配列、およびＣＤＲ３配列を含む重鎖可変領域ならびに
ＣＤＲ１配列、ＣＤＲ２配列、およびＣＤＲ３配列を含む軽鎖可変領域を含み、
前記重鎖可変領域ＣＤＲ３配列は、配列番号３１、７、１９、４３、５５、６７、７３、７９、９１、およびその保存的配列修飾物からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む、単離モノクローナル抗体。
【請求項１０】
前記軽鎖可変領域ＣＤＲ３配列が、配列番号３７、１３、２５、４９、６１、８５、およびその保存的配列修飾物からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む、請求項９に記載の抗体。
【請求項１１】
前記重鎖可変領域ＣＤＲ２配列が、配列番号３０、６、１８、４２、５４、６６、７２、７８、９０、およびその保存的配列修飾物からなる群から選択されるアミノ酸配列を含み、前記軽鎖可変領域ＣＤＲ２配列が、配列番号３６、１２、２４、４８、６０、８４、およびその保存的配列修飾物からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む、請求項１０に記載の抗体。
【請求項１２】
前記重鎖可変領域ＣＤＲ１配列が、配列番号２９、５、１７、４１、５３、６５、７１、７７、８９、およびその保存的配列修飾物からなる群から選択されるアミノ酸配列を含み、前記軽鎖可変領域ＣＤＲ１配列が、配列番号３５、１１、２３、４７、５９、８３、およびその保存的配列修飾物からなる群から選択される、請求項１１に記載の抗体。
【請求項１３】
前記保存的配列修飾物が保存的アミノ酸置換物である、請求項９から１２のいずれか１項に記載の抗体。
【請求項１４】
ヒトＤＥＣ－２０５に結合し、以下：
（ｉ）配列番号２９を含む重鎖可変領域ＣＤＲ１；
配列番号３０を含む重鎖可変領域ＣＤＲ２；
配列番号３１を含む重鎖可変領域ＣＤＲ３；
配列番号３５を含む軽鎖可変領域ＣＤＲ１；
配列番号３６を含む軽鎖可変領域ＣＤＲ２；
配列番号３７を含む軽鎖可変領域ＣＤＲ３；
またはその保存的配列修飾物；
（ｉｉ）配列番号１７を含む重鎖可変領域ＣＤＲ１；
配列番号１８を含む重鎖可変領域ＣＤＲ２；
配列番号１９を含む重鎖可変領域ＣＤＲ３；
配列番号２３を含む軽鎖可変領域ＣＤＲ１；
配列番号２４を含む軽鎖可変領域ＣＤＲ２；
配列番号２５を含む軽鎖可変領域ＣＤＲ３；
またはその保存的配列修飾物；
（ｉｉｉ）配列番号５を含む重鎖可変領域ＣＤＲ１；
配列番号６を含む重鎖可変領域ＣＤＲ２；

配列番号７を含む重鎖可変領域ＣＤＲ３；
配列番号１１を含む軽鎖可変領域ＣＤＲ１；
配列番号１２を含む軽鎖可変領域ＣＤＲ２；
配列番号１３を含む軽鎖可変領域ＣＤＲ３；
その保存的配列修飾物；
（ｉｖ）配列番号４１を含む重鎖可変領域ＣＤＲ１；
配列番号４２を含む重鎖可変領域ＣＤＲ２；
配列番号４３を含む重鎖可変領域ＣＤＲ３；
配列番号４７を含む軽鎖可変領域ＣＤＲ１；
配列番号４８を含む軽鎖可変領域ＣＤＲ２；
配列番号４９を含む軽鎖可変領域ＣＤＲ３；
またはその保存的配列修飾物；
（ｖ）配列番号５３を含む重鎖可変領域ＣＤＲ１；
配列番号５４を含む重鎖可変領域ＣＤＲ２；
配列番号５５を含む重鎖可変領域ＣＤＲ３；
配列番号５９を含む軽鎖可変領域ＣＤＲ１；
配列番号６０を含む軽鎖可変領域ＣＤＲ２；
配列番号６１を含む軽鎖可変領域ＣＤＲ３；
またはその保存的配列修飾物；および
（ｖｉｉ）配列番号７７を含む重鎖可変領域ＣＤＲ１；
配列番号７８を含む重鎖可変領域ＣＤＲ２；
配列番号７９を含む重鎖可変領域ＣＤＲ３；
配列番号８３を含む軽鎖可変領域ＣＤＲ１；
配列番号８４を含む軽鎖可変領域ＣＤＲ２；
配列番号８５を含む軽鎖可変領域ＣＤＲ３；
またはその保存的配列修飾物
からなる群から選択される重鎖および軽鎖可変領域ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、およびＣＤＲ３配列を含む、単離モノクローナル抗体。

【請求項１５】
ヒトＤＥＣ－２０５に結合し、以下：
配列番号２９を含む重鎖可変領域ＣＤＲ１；
配列番号３０を含む重鎖可変領域ＣＤＲ２；
配列番号３１を含む重鎖可変領域ＣＤＲ３；
配列番号３５を含む軽鎖可変領域ＣＤＲ１；
配列番号３６を含む軽鎖可変領域ＣＤＲ２；および
配列番号３７を含む軽鎖可変領域ＣＤＲ３
を含む、単離モノクローナル抗体。

【請求項１６】
ヒトＤＥＣ－２０５に結合する単離モノクローナル抗体であって、前記抗体が、
ＣＤＲ１配列、ＣＤＲ２配列、およびＣＤＲ３配列を含む重鎖可変領域；ならびに
ＣＤＲ１配列、ＣＤＲ２配列、およびＣＤＲ３配列を含む軽鎖可変領域を含み、
前記重鎖可変領域ＣＤＲ３配列が、コンセンサス配列：（Ａ，Ｇ，Ｙ，Ｓ，Ｐ，－）（Ｐ，Ｗ，Ｓ，Ｒ）（Ｙ，Ａ，Ｈ）ＦＤ（Ｙ，Ｌ，Ｖ）（配列番号９９）から選択されるアミノ酸配列を含む（ここで、「－」はその共通の位置にアミノ酸残基が存在しないというオプションを示す）、単離モノクローナル抗体。

【請求項１７】
前記軽鎖可変領域ＣＤＲ３配列が、コンセンサス配列：ＱＱ（Ｒ，Ｙ，Ｆ）（Ｒ，Ｎ）（Ｔ，Ｓ，Ｎ）（Ｙ，Ｗ，－）（Ｐ，－）（Ｙ，Ｌ，Ｈ，－）（Ｔ，－）（配列番号１０２）から選択されるアミノ酸配列を含む（ここで、「－」はその共通の位置にアミノ酸残基が存在しないというオプションを示す）、請求項１６に記載の抗体。

【請求項１８】
前記重鎖可変領域ＣＤＲ２配列が、コンセンサス配列：（Ｖ，Ｉ，Ｆ，Ｔ，Ａ）Ｉ（Ｗ，Ｇ）（Ｙ，Ｔ）（Ｄ，Ｇ）Ｇ（Ｓ，Ｇ，Ｙ）（Ｎ，Ｔ）（Ｋ，Ｐ）Ｙ（Ｙ，Ａ，Ｖ）（Ａ，Ｇ，－）ＤＳＶＫＧ（配列番号９８）（ここで、「－」はその共通の位置にアミノ酸残基が存在しないというオプションを示す）から選択されるアミノ酸配列を含み、前記軽鎖可変領域ＣＤＲ２配列が、コンセンサス配列：（Ｄ，Ａ）ＡＳ（Ｎ，Ｓ）（Ｒ，Ｌ）（Ａ，Ｑ，Ｅ）（Ｔ，Ｓ）（配列番号１０１）から選択されるアミノ酸配列を含む、請求項１７に記載の抗体。
【請求項１９】
前記重鎖可変領域ＣＤＲ１配列が、コンセンサス配列：（Ｉ，Ｎ，Ｔ，Ｓ）Ｙ（Ｇ，Ｎ，Ａ）Ｍ（Ｈ，Ｙ）（配列番号９７）から選択されるアミノ酸配列を含み、前記軽鎖可変領域ＣＤＲ１配列が、コンセンサス配列：ＲＡＳＱ（Ｓ，Ｇ）（Ｉ，Ｖ）ＳＳ（Ｙ，Ｗ，Ａ）ＬＡ（配列番号１００）から選択されるアミノ酸配列を含む、請求項１８に記載の抗体。
【請求項２０】
ヒトＤＥＣ－２０５に結合し、以下：
（ｉ）コンセンサス配列：（Ｉ，Ｎ，Ｔ，Ｓ）Ｙ（Ｇ，Ｎ，Ａ）Ｍ（Ｈ，Ｙ）（配列番号９７）から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域ＣＤＲ１；
（ｉｉ）コンセンサス配列：（Ｖ，Ｉ，Ｆ，Ｔ，Ａ）Ｉ（Ｗ，Ｇ）（Ｙ，Ｔ）（Ｄ，Ｇ）Ｇ（Ｓ，Ｇ，Ｙ）（Ｎ，Ｔ）（Ｋ，Ｐ）Ｙ（Ｙ，Ａ，Ｖ）（Ａ，Ｇ，－）ＤＳＶＫＧ（配列番号９８）から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域ＣＤＲ２；
（ｉｉｉ）コンセンサス配列：（Ａ，Ｇ，Ｙ，Ｓ，Ｐ，－）（Ｐ，Ｗ，Ｓ，Ｒ）（Ｙ，Ａ，Ｈ）ＦＤ（Ｙ，Ｌ，Ｖ）（配列番号９９）から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域ＣＤＲ３；
（ｉｖ）コンセンサス配列：ＲＡＳＱ（Ｓ，Ｇ）（Ｉ，Ｖ）ＳＳ（Ｙ，Ｗ，Ａ）ＬＡ（配列番号１００）から選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域ＣＤＲ１；
（ｖ）コンセンサス配列：（Ｄ，Ａ）ＡＳ（Ｎ，Ｓ）（Ｒ，Ｌ）（Ａ，Ｑ，Ｅ）（Ｔ，Ｓ）（配列番号１０１）から選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域ＣＤＲ２；
（ｖｉ）コンセンサス配列：ＱＱ（Ｒ，Ｙ，Ｆ）（Ｒ，Ｎ）（Ｔ，Ｓ，Ｎ）（Ｙ，Ｗ，－）（Ｐ，－）（Ｙ，Ｌ，Ｈ，－）（Ｔ，－）（配列番号１０２）から選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域ＣＤＲ３（ここで、「－」はその共通の位置にアミノ酸残基が存在しないというオプションを示す）
からなる群から選択される重鎖および軽鎖可変領域ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、およびＣＤＲ３配列を含む、単離モノクローナル抗体。
【請求項２１】
ヒトＤＥＣ－２０５に結合し、配列番号２８、４、１６、４０、５２、６４、７０、７６、８８、およびその保存的配列修飾物からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域を含む、単離モノクローナル抗体。
【請求項２２】
配列番号３４、１０、２２、４６、５８、８２、およびその保存的配列修飾物からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域をさらに含む、請求項２１に記載の抗体。
【請求項２３】
ヒトＤＥＣ－２０５に結合し、以下：
（ａ）それぞれ配列番号２８および３４ならびにその保存的配列修飾物；
（ｂ）それぞれ配列番号１６および２２ならびにその保存的配列修飾物；
（ｃ）それぞれ配列番号４および１０ならびにその保存的配列修飾物；
（ｄ）それぞれ配列番号４０および４６ならびにその保存的配列修飾物；
（ｅ）それぞれ配列番号５２および５８ならびにその保存的配列修飾物；
（ｄ）それぞれ配列番号７６および８２ならびにその保存的配列修飾物

からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域および軽鎖可変領域を含む、単離モノクローナル抗体。
【請求項２４】
ヒトＤＥＣ－２０５に結合し、アミノ酸配列である配列番号２８を含む重鎖可変領域およびアミノ酸配列である配列番号３４を含む軽鎖可変領域を含む、単離モノクローナル抗体。
【請求項２５】
ヒトＤＥＣ－２０５に結合し、配列番号２８、４、１６、４０、５２、６４、７０、７６、および８８からなる群から選択されるアミノ酸配列と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域を含む、単離モノクローナル抗体。
【請求項２６】
配列番号３４、１０、２２、４６、５８、および８２からなる群から選択されるアミノ酸配列と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域をさらに含む、請求項２５に記載の抗体。
【請求項２７】
ヒトＤＥＣ－２０５に結合し、以下：
（ａ）それぞれ配列番号２８および３４；
（ｂ）それぞれ配列番号１６および２２；
（ｃ）それぞれ配列番号４および１０
（ｄ）それぞれ配列番号４０および４６；
（ｅ）それぞれ配列番号５２および５８；および
（ｆ）それぞれ配列番号７６および８２
からなる群から選択されるアミノ酸配列と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域および軽鎖可変領域を含む、単離モノクローナル抗体。
【請求項２８】
ヒトＤＥＣ－２０５に結合し、アミノ酸配列である配列番号２８と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域およびアミノ酸配列である配列番号３４と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む、単離モノクローナル抗体。
【請求項２９】
ヒトＤＥＣ－２０５に結合し、配列番号２８、４、１６、４０、５２、６４、７０、７６、および８８からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域または前記重鎖可変領域のフレームワーク領域中の少なくとも１つのアミノ酸残基が対応する生殖系列残基と置換された配列を含む、単離モノクローナル抗体。
【請求項３０】
配列番号３４、１０、２２、４６、５８、および８２からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域または前記軽鎖可変領域のフレームワーク領域中の少なくとも１つのアミノ酸残基が対応する生殖系列残基と置換された配列をさらに含む、請求項２９に記載の抗体。
【請求項３１】
前記少なくとも１つの置換アミノ酸残基が、抗原と直接非共有結合する残基；ＣＤＲに隣接する残基；ＣＤＲ相互作用残基；ＶＬ－ＶＨ界面に関与する残基、カノニカル残基、バーニアゾーン残基、および鎖間充填残基からなる群から選択される、請求項２９または３０に記載の抗体。
【請求項３２】
前記抗体が、ＩｇＧ１抗体、ＩｇＧ２抗体、ＩｇＧ３抗体、ＩｇＧ４抗体、ＩｇＭ抗体、ＩｇＡ１抗体、ＩｇＡ２抗体、ＩｇＡｓｅｃ抗体、ＩｇＤ抗体、およびＩｇＥ抗体からなる群から選択される、請求項１～３１のいずれか１項に記載の抗体。
【請求項３３】
請求項１から２または４から３１のいずれか１項に記載の抗体と結合を競合する単離抗体

。
【請求項３４】
ヒトＤＥＣ－２０５に結合する単離モノクローナル抗体であって、前記抗体が、以下：
（ａ）それぞれ配列番号２６および３２；
（ｂ）それぞれ配列番号１４および２０；
（ｃ）それぞれ配列番号２および８；
（ｄ）それぞれ配列番号３８および４４；
（ｅ）それぞれ配列番号５０および５６；および
（ｆ）それぞれ配列番号７４および８０；
または（ａ）～（ｆ）の核酸配列と少なくとも９０％同一である核酸配列からなる群から選択される核酸配列によってコードされる重鎖可変領域および軽鎖可変領域を含む、単離モノクローナル抗体。
【請求項３５】
前記抗体がヒト抗体である、請求項１～３４のいずれか１項に記載の抗体。
【請求項３６】
ヒトＤＥＣ－２０５に結合する抗体の軽鎖、重鎖、または軽鎖と重鎖の両方の可変領域をコードするヌクレオチド配列を含む発現ベクター。
【請求項３７】
請求項１から３４のいずれか１項に記載のヒトＤＥＣ－２０５に結合する抗体の軽鎖、重鎖、または軽鎖と重鎖の両方の可変領域をコードするヌクレオチド配列を含む発現ベクター。
【請求項３８】
請求項３６または３７に記載の発現ベクターで形質転換された細胞。
【請求項３９】
抗原に連結した請求項１から３４のいずれか１項に記載の抗体を含む分子抱合体。
【請求項４０】
前記抗原が病原体成分を含む、請求項３９に記載の分子抱合体。
【請求項４１】
前記抗原が、腫瘍抗原、アレルゲン、または自己抗原を含む、請求項３９に記載の分子抱合体。
【請求項４２】
前記抗原が腫瘍抗原を含む、請求項３９に記載の分子抱合体。
【請求項４３】
前記腫瘍抗原が、βｈＣＧ、ｇｐ１００またはＰｍｅｌ１７、ＨＥＲ２／ｎｅｕ、ＷＴ１、メソセリン、ＣＥＡ、ｇｐ１００、ＭＡＲＴ１、ＴＲＰ－２、ＮＹ－ＢＲ－１、ＮＹ－ＣＯ－５８、ＭＮ（ｇｐ２５０）、イディオタイプ、チロシナーゼ、テロメラーゼ、ＳＳＸ２、ＭＵＣ－１、ＭＡＲＴ１、メラン－Ａ、ＮＹ－ＥＳＯ－１、ＭＡＧＥ－１、ＭＡＧＥ－３、ＭＡＧＥ－Ａ３、および高分子量黒色腫関連抗原（ＨＭＷ－ＭＡＡ）からなる群から選択される、請求項４２に記載の分子抱合体。
【請求項４４】
前記腫瘍抗原が、βｈＣＧ、ＮＹ－ＥＳＯ－１、メソセリン、またはＨＥＲ２／ｎｅｕ由来の配列である、請求項４３に記載の分子抱合体。
【請求項４５】
前記抗原が、ＨＩＶ、ＨＰＶ、ＨＢＶ、またはＨＣＶに由来する、請求項４０に記載の分子抱合体。
【請求項４６】
治療薬をさらに含む、請求項４０から４５のいずれか１項に記載の分子抱合体。
【請求項４７】
前記治療薬が、細胞毒性薬、免疫抑制薬、および化学療法薬からなる群から選択される、請求項４６に記載の分子抱合体。

【請求項４８】
抗体と異なる結合特異性を有する分子に連結した請求項１から３４のいずれか１項に記載の抗体を含む二重特異性分子。
【請求項４９】
請求項１から３４に記載の抗体、請求項３９から４７のいずれか１項に記載の分子抱合体、または請求項４８に記載の二重特異性分子、および薬学的に有効なキャリアを含む組成物。
【請求項５０】
治療薬をさらに含む、請求項４９に記載の組成物。
【請求項５１】
前記薬剤が免疫抑制薬である、請求項５０に記載の組成物。
【請求項５２】
前記治療薬が抗体である、請求項５０に記載の組成物。
【請求項５３】
ＴＬＲ３アゴニスト、ＴＬＲ４アゴニスト、ＴＬＲ５アゴニスト、ＴＬＲ６アゴニスト、ＴＬＲ７アゴニスト、ＬＴＲ８アゴニスト、またはＴＬＲ９アゴニストから選択される免疫賦活薬を含む、請求項４９に記載の組成物。
【請求項５４】
請求項４９に記載の組成物を被験体に投与する工程を含む、被験体におけるＤＥＣ－２０５への抗原のターゲティング方法。
【請求項５５】
請求項４９に記載の組成物を被験体に投与する工程を含む、被験体における抗原に対する免疫応答を誘導または増強する方法。
【請求項５６】
前記免疫応答が、ＭＨＣ－Ｉ抱合体および／またはＭＨＣ－ＩＩ抱合体の成分としての抗原の提示を含む、請求項５５に記載の方法。
【請求項５７】
抗原に対するＴ細胞媒介性応答を誘導または増強する様式で、抗原がプロセシングされてＴ細胞に提示されるように、請求項４９に記載の組成物を被験体に投与する工程を含む、抗原に対する被験体のＴ細胞媒介性免疫応答を誘導または増強する方法。
【請求項５８】
前記Ｔ細胞応答がＣＤ４＋Ｔ細胞およびＣＤ８＋Ｔ細胞の両方によって媒介される、請求項５７に記載の方法。
【請求項５９】
前記Ｔ細胞応答が細胞傷害性Ｔ細胞またはヘルパーＴ細胞によって媒介される、請求項５７に記載の方法。
【請求項６０】
請求項４９に記載の組成物を被験体に投与する工程を含む、被験体を免疫化する方法。
【請求項６１】
前記組成物を樹状細胞によるサイトカイン放出を誘導するのに十分な量で投与する、請求項６０に記載の方法。
【請求項６２】
有効量の請求項４８に記載の組成物を被験体に投与する工程を含む、被験体の障害を治療する方法。
【請求項６３】
前記障害が、結腸癌、胃癌、乳癌、肺癌、卵巣癌、脳癌、腎癌、肝臓癌、食道癌、黒色腫、リンパ腫、前立腺癌腫、膵臓癌腫、膀胱癌腫、線維肉腫、横紋筋肉腫、肥満細胞腫、乳腺腺癌、白血病、およびリウマチ様線維芽細胞腫からなる障害の群から選択される、請求項６２に記載の方法。
【請求項６４】

前記障害が、細菌、真菌、ウイルス、および寄生虫の感染症からなる障害の群から選択される、請求項６２に記載の方法。
【請求項６５】
前記障害が、アレルギー、移植片拒絶、および自己免疫疾患からなる障害の群から選択される、請求項６２に記載の方法。
【請求項６６】
前記障害が、関節リウマチ、多発性硬化症、１型真性糖尿病、重症筋無力症、悪性貧血、アジソン病、シェーグレン症候群、乾癬、エリテマトーデス、クローン病、潰瘍性大腸炎、強皮症、レイノー症候群、ライター症候群、橋本甲状腺炎、またはグレーブス病からなる自己免疫障害の群から選択される、請求項６２に記載の方法。
【請求項６７】
生物学的サンプル中のＤＥＣ－２０５の有無を検出する方法であって、
（ａ）生物学的サンプルを請求項１から３４のいずれか１項に記載の抗体と接触させる工程であって、前記抗体が検出可能な物質で標識されている、接触させる工程、および
（ｂ）ＤＥＣ－２０５に結合した前記抗体を検出し、それにより、前記生物学的サンプル中のＤＥＣ－２０５の有無を検出する工程
を含む、方法。
【請求項６８】
Ｂ細胞がＭＨＣクラスＩ拘束性Ｔ細胞を刺激するように抗原に連結したＢ細胞の表面上の受容体に結合する分子を含む分子抱合体を被験体に投与する工程を含む、被験体におけるＢ細胞に抗原をターゲティングする方法。
【請求項６９】
Ｂ細胞がＭＨＣクラスＩ拘束性Ｔ細胞を刺激するように抗原に連結したＢ細胞の表面上の受容体に結合する分子を含む分子抱合体を被験体に投与する工程を含む、被験体における抗原に対する免疫応答を誘導または増強する方法。
【請求項７０】
Ｂ細胞がＭＨＣクラスＩ拘束性Ｔ細胞を刺激するように抗原に連結したＢ細胞の表面上の受容体に結合する分子を含む分子抱合体を被験体に投与する工程を含む、抗原に対して被験体を免疫化する方法。
【請求項７１】
前記受容体がＣ型レクチン受容体である、請求項６８から７０のいずれか１項に記載の方法。
【請求項７２】
前記受容体がＤＥＣ－２０５である、請求項６８から７１のいずれか１項に記載の方法。
【請求項７３】
前記受容体に結合する分子が抗体である、請求項６８から７２のいずれか１項に記載の方法。
【請求項７４】
前記抗体が抗ＤＥＣ－２０５抗体である、請求項７３に記載の方法。
【請求項７５】
前記Ｂ細胞が共刺激経路を介して活性化される、請求項６８から７４のいずれか１項に記載の方法。
【請求項７６】
前記抗原がＢ細胞によってＭＨＣクラスＩ分子上に提示される、請求項６８から７５のいずれか１項に記載の方法。
【請求項７７】
前記抗原がＨＬＡ－Ａ２．１分子上に提示される、請求項６８から７６のいずれか１項に記載の方法。
【請求項７８】
前記抗原が腫瘍抗原である、請求項６８から７７のいずれか１項に記載の方法。

【請求項７９】
前記腫瘍抗原がβｈＣＧである、請求項７８に記載の方法。
【請求項８０】
前記抗原が病原体である、請求項６８から７７のいずれか１項に記載の方法。
【請求項８１】
障害が、結腸癌、胃癌、乳癌、肺癌、卵巣癌、脳癌、腎癌、肝臓癌、食道癌、黒色腫、リンパ腫、前立腺癌腫、膵臓癌腫、膀胱癌腫、線維肉腫、横紋筋肉腫、肥満細胞腫、乳腺腺癌、白血病、およびリウマチ様線維芽細胞腫からなる障害の群から選択される、被験体の障害を治療するための請求項７８に記載の方法。
【請求項８２】
前記障害が、細菌、真菌、ウイルス、または寄生虫の感染症からなる障害の群から選択される、被験体の障害の治療のための請求項８０に記載の方法。
【請求項８３】
請求項１から３のいずれか１項に記載の抗体によって結合したエピトープに結合する単離ヒト抗体または単離ヒト化抗体。
【請求項８４】
請求項４から３１のいずれか１項に記載の抗体によって結合したエピトープに結合する単離抗体。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
（関連する出願）
本願は、２００７年１１月７日に出願された米国仮特許出願第６１／００２２５３号および２００８年９月１０日に出願された米国仮特許出願第６１／１９１５５１号に対する優先権を主張する。米国仮特許出願第６１／００２２５３号および米国仮特許出願第６１／１９１５５１号の内容は、参考として本明細書中に援用される。
【背景技術】
【０００２】
発明の背景
樹状細胞（ＤＣ）は免疫系の特殊な細胞である。ＤＣは、細胞表面主要組織適合性遺伝子複合体（ＭＨＣ）分子に結合したペプチドの形態で抗原を提示することによってＴおよびＢリンパ球の一次および二次応答を惹起する固有の能力を有する。樹状細胞の抗原提示機能は、ヒト樹状細胞および上皮細胞２０５受容体（ＤＥＣ－２０５）の高レベル発現と相関している（非特許文献１）。
【０００３】
ＤＥＣ－２０５は、樹状細胞で最初に見出されたが、Ｂ細胞、脳毛細血管、骨髄間質、腸絨毛および肺気道の上皮、ならびに末梢リンパ器官のＴ細胞領域中の胸腺および樹状細胞の皮質上皮上にも見出されるエンドサイトーシス受容体である。ＤＥＣ－２０５は、リンパ器官のＴ細胞領域中のＤＣ上に高レベルで発現される（非特許文献２；非特許文献３）。ＤＥＣ－２０５は、ｉｎ　ｖｉｖｏでＭＨＣクラスＩＩ産物上の有効な抗原のプロセシングおよび提示を媒介する１０の膜外の連続したＣ型レクチンドメイン（Ｉｄ．；非特許文献４）を有する（非特許文献５）。ＤＥＣ－２０５吸着経路によってＤＣにターゲティングした少量の注入抗原が固体末梢ＣＤ８$^{+}$Ｔ細胞寛容を誘導することができることが示されている（非特許文献６）。
【０００４】
近年の樹状細胞の特徴づけの進歩にもかかわらず、樹状細胞特異的受容体（ＤＥＣ－２０５など）に関してほとんど知られておらず、樹状細胞に特異的な試薬はほとんど利用可能でない。ＤＥＣ－２０５などを介して樹状細胞と特異的または優先的に反応する試薬（特に、抗体）は、腫瘍抗原または感染症抗原に対する強い免疫応答を誘導するためのターゲティング薬としての大いなる可能性を有する。これらの細胞特異的ターゲティング薬を

、骨髄および臓器移植術または他の自己免疫障害に毒素を送達させて強い抗原提示細胞（例えば、樹状細胞）を排除するように操作することもできる。したがって、かかる樹状細胞特異的結合剤は、大きな治療的および診断的な価値を有する。

【先行技術文献】

【非特許文献】

【０００５】

【非特許文献１】Ｊｉａｎｇら（１９９５）Ｎａｔｕｒｅ　３７５（１１）１５１

【非特許文献２】Ｋｒａａｌら（１９８６）Ｊ．Ｅｘｐ．Ｍｅｄ．１６３：９８１

【非特許文献３】Ｗｉｔｍｅｒ－Ｐａｃｋら（１９９５）Ｃｅｌｌ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１６３：１５７

【非特許文献４】Ｍａｈｎｋｅら（２０００）Ｊ．Ｃｅｌｌ　Ｂｉｏｌ．１５１：６７３

【非特許文献５】Ｈａｗｉｇｅｒら（２００１）Ｊ．Ｅｘｐ．Ｍｅｄ．１９４：７６９

【非特許文献６】Ｂｏｎｉｆａｚら（２００２）Ｊ．Ｅｘｐ．Ｍｅｄ．１９６（１２）：１６２７

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【０００６】

発明の概要

本発明は、ヒトＤＥＣ－２０５に結合して特定の性質を示す単離抗体（例えば、ヒト抗体）を提供する。本発明はまた、かかる抗体を含むワクチンコンジュゲート、二重特異性分子、および治療組成物を提供する。したがって、本発明の抗体および組成物を種々の樹状細胞ターゲティング療法で使用して、例えば、抗原提示を増強し、そして／または種々の標的細胞または病原体に対するＴ細胞応答（細胞傷害性Ｔ細胞（ＣＴＬ）応答など）を誘導するか、抗原提示細胞（ＡＰＣ）媒介疾患を治療することができる。

【０００７】

１つの実施形態では、本発明の抗体は、１つまたは複数の以下の性質を示す：（１）表面プラズモン共鳴によって測定した場合に少なくとも$10^{8}M^{-1}$の親和定数でヒトＤＥＣ－２０５に結合すること、（２）ＤＥＣ－２０５を発現するヒト樹状細胞への結合後の内在化、（３）ＭＨＣクラスＩおよび／またはクラスＩＩ経路のいずれかによって適切に媒介される抗原（抗体に連結することができる）に対するヒトＴ細胞応答（例えば、ＣＤ４＋およびＣＤ８＋（ＣＴＬ）Ｔ細胞応答）の生成または増強、および（４）末梢$CD8^{+}$Ｔ細胞寛容の誘導。さらに、抗体は、非ヒト霊長類の樹状細胞または他の種の樹状細胞上のＤＥＣ－２０５と交差反応することができる。なおさらに、抗体は、１つまたは複数のさらなる性質（例えば、以下が含まれる）を適切に示すことができる：（１）ヒトＤＥＣ－２０５の細胞外ドメイン（例えば、システインリッチドメイン、ＦｎＩＩドメイン、または１０のＣ型レクチン様ドメインのうちの１つまたは複数のうちの１つまたは組み合わせ）上に存在するエピトープへの選択的結合、および（２）細胞内の抗原プロセシング区画への局在化。

【０００８】

本発明の抗体の特定の例は、特定のヒト生殖系列を使用する（すなわち、生殖系列遺伝子によってコードされる）が、抗体成熟中に起こる遺伝子の再配列および変異（例えば、体細胞変異）を含む重鎖および軽鎖可変領域を含む。１つの実施形態では、本発明の抗体の重鎖可変領域は、ヒト生殖系列$V_{H}3-33$遺伝子を使用し、配列番号９５と比較して配列番号４、１６、２８、４０、５２、７６、および８８のいずれか１つにアミノ酸置換のうちの少なくとも１つを含む。あるいは、重鎖可変領域は、ヒト生殖系列Ｏｒｐｈ－Ｃ１６遺伝子を使用し、配列番号９６と比較して配列番号６４および７０のいずれかにアミノ酸置換のうちの少なくとも１つを含む。

【０００９】

別の実施形態では、抗体の軽鎖可変領域は、（ａ）ヒト生殖系列ＶＫ１－Ｌ１５遺伝子を使用し、配列番号９４と比較して配列番号１０にアミノ酸置換のうちの少なくとも１つ

を含むか、（ｂ）ヒト生殖系列ＶＫ１－Ｌ４遺伝子を使用し、配列番号９３と比較して配列番号２２または８２のいずれか１つにアミノ酸置換のうちの少なくとも１つを含むか、（ｃ）ヒト生殖系列ＶＫ３－Ｌ６遺伝子を使用し、配列番号９２と比較して配列番号３４、４６、５８のいずれか１つにアミノ酸置換のうちの少なくとも１つを含む領域からなる群から選択される。

【００１０】

別の実施形態では、重鎖可変領域ＣＤＲ３配列は、配列番号７、１９、３１、４３、５５、６７、７３、７９、９１、およびその保存的配列修飾物（例えば、保存的アミノ酸置換物）からなる群から選択される。抗体は、配列番号１３、２５、３７、４９、６１、８５、およびその保存的配列修飾物からなる群から選択される軽鎖可変領域ＣＤＲ３配列をさらに含むことができる。別の実施形態では、重鎖ＣＤＲ２およびＣＤＲ１配列は、それぞれ、配列番号６、１８、３０、４２、５４、６６、７２、７８、９０、および配列番号５、１７、２９、４１、５３、６５、７１、７７、８９、ならびにその保存的配列修飾物から選択される。軽鎖ＣＤＲ２およびＣＤＲ１配列は、それぞれ、配列番号１２、２４、３６、４８、６０、８４、および配列番号１１、２３、３５、４７、５９、８３、ならびにその保存的配列修飾物から選択される。

【００１１】

さらに別の実施形態では、本発明は、ＤＥＣ－２０５に結合し、以下：

（ｉ）配列番号５を含む重鎖可変領域ＣＤＲ１；
配列番号６を含む重鎖可変領域ＣＤＲ２；
配列番号７を含む重鎖可変領域ＣＤＲ３；
配列番号１１を含む軽鎖可変領域ＣＤＲ１；
配列番号１２を含む軽鎖可変領域ＣＤＲ２；
配列番号１３を含む軽鎖可変領域ＣＤＲ３；または
その保存的配列修飾物；

（ｉｉ）配列番号１７を含む重鎖可変領域ＣＤＲ１；
配列番号１８を含む重鎖可変領域ＣＤＲ２；
配列番号１９を含む重鎖可変領域ＣＤＲ３；
配列番号２３を含む軽鎖可変領域ＣＤＲ１；
配列番号２４を含む軽鎖可変領域ＣＤＲ２；
配列番号２５を含む軽鎖可変領域ＣＤＲ３；または
その保存的配列修飾物；

（ｉｉｉ）配列番号２９を含む重鎖可変領域ＣＤＲ１；
配列番号３０を含む重鎖可変領域ＣＤＲ２；
配列番号３１を含む重鎖可変領域ＣＤＲ３；
配列番号３５を含む軽鎖可変領域ＣＤＲ１；
配列番号３６を含む軽鎖可変領域ＣＤＲ２；
配列番号３７を含む軽鎖可変領域ＣＤＲ３；または
その保存的配列修飾物；

（ｉｖ）配列番号４１を含む重鎖可変領域ＣＤＲ１；
配列番号４２を含む重鎖可変領域ＣＤＲ２；
配列番号４３を含む重鎖可変領域ＣＤＲ３；
配列番号４７を含む軽鎖可変領域ＣＤＲ１；
配列番号４８を含む軽鎖可変領域ＣＤＲ２；
配列番号４９を含む軽鎖可変領域ＣＤＲ３；または
その保存的配列修飾物；

（ｖ）配列番号５３を含む重鎖可変領域ＣＤＲ１；
配列番号５４を含む重鎖可変領域ＣＤＲ２；
配列番号５５を含む重鎖可変領域ＣＤＲ３；
配列番号５９を含む軽鎖可変領域ＣＤＲ１；

配列番号６０を含む軽鎖可変領域ＣＤＲ２；
配列番号６１を含む軽鎖可変領域ＣＤＲ３；または
その保存的配列修飾物；
（ｖｉ）配列番号７７を含む重鎖可変領域ＣＤＲ１；
配列番号７８を含む重鎖可変領域ＣＤＲ２；
配列番号７９を含む重鎖可変領域ＣＤＲ３；
配列番号８３を含む軽鎖可変領域ＣＤＲ１；
配列番号８４を含む軽鎖可変領域ＣＤＲ２；
配列番号８５を含む軽鎖可変領域ＣＤＲ３；または
その保存的配列修飾物
からなる群から選択される重鎖および軽鎖可変領域ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、およびＣＤＲ３配列を含む単離抗体を提供する。

【００１２】

例えば、単離抗体は、ヒトＤＥＣ－２０５に結合し、
配列番号２９を含む重鎖可変領域ＣＤＲ１
配列番号３０を含む重鎖可変領域ＣＤＲ２
配列番号３１を含む重鎖可変領域ＣＤＲ３
配列番号３５を含む軽鎖可変領域ＣＤＲ１；
配列番号３６を含む軽鎖可変領域ＣＤＲ２；および
配列番号３７を含む軽鎖可変領域ＣＤＲ３
を含む。

【００１３】

別の実施形態では、重鎖可変領域ＣＤＲ３配列は、コンセンサス配列：（Ａ，Ｇ，Ｙ，Ｓ，Ｐ，－）（Ｐ，Ｗ，Ｓ，Ｒ）（Ｙ，Ａ，Ｈ）ＦＤ（Ｙ，Ｌ，Ｖ）（配列番号９９）（ここで、「－」はその共通の位置にアミノ酸残基が存在しないというオプションを示す）から選択されるアミノ酸配列を含む。抗体は、コンセンサス配列：ＱＱ（Ｒ，Ｙ，Ｆ）（Ｒ，Ｎ）（Ｔ，Ｓ，Ｎ）（Ｙ，Ｗ，－）（Ｐ，－）（Ｙ，Ｌ，Ｈ，－）（Ｔ，－）（配列番号１０２）（ここで、「－」はその共通の位置にアミノ酸残基が存在しないというオプションを示す）から選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域ＣＤＲ３配列をさらに含むことができる。別の実施形態では、重鎖可変領域ＣＤＲ２配列は、コンセンサス配列：（Ｖ，Ｉ，Ｆ，Ｔ，Ａ）Ｉ（Ｗ，Ｇ）（Ｙ，Ｔ）（Ｄ，Ｇ）Ｇ（Ｓ，Ｇ，Ｙ）（Ｎ，Ｔ）（Ｋ，Ｐ）Ｙ（Ｙ，Ａ，Ｖ）（Ａ，Ｇ，－）ＤＳＶＫＧ（配列番号９８）（ここで、「－」はその共通の位置にアミノ酸残基が存在しないというオプションを示す）から選択されるアミノ酸配列を含み、軽鎖可変領域ＣＤＲ２配列は、コンセンサス配列：（Ｄ，Ａ）ＡＳ（Ｎ，Ｓ）（Ｒ，Ｌ）（Ａ，Ｑ，Ｅ）（Ｔ，Ｓ）（配列番号１０１）から選択されるアミノ酸配列を含む。別の実施形態では、重鎖可変領域ＣＤＲ１配列は、コンセンサス配列：（Ｉ，Ｎ，Ｔ，Ｓ）Ｙ（Ｇ，Ｎ，Ａ）Ｍ（Ｈ，Ｙ）（配列番号９７）から選択されるアミノ酸配列を含み、軽鎖可変領域ＣＤＲ１配列は、コンセンサス配列：ＲＡＳＱ（Ｓ，Ｇ）（Ｉ，Ｖ）ＳＳ（Ｙ，Ｗ，Ａ）ＬＡ（配列番号１００）から選択されるアミノ酸配列を含む。

【００１４】

さらに別の実施形態では、本発明は、ＤＥＣ－２０５に結合し、以下：
（ｉ）コンセンサス配列：（Ｉ，Ｎ，Ｔ，Ｓ）Ｙ（Ｇ，Ｎ，Ａ）Ｍ（Ｈ，Ｙ）（配列番号９７）から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域ＣＤＲ１；
（ｉｉ）コンセンサス配列：（Ｖ，Ｉ，Ｆ，Ｔ，Ａ）Ｉ（Ｗ，Ｇ）（Ｙ，Ｔ）（Ｄ，Ｇ）Ｇ（Ｓ，Ｇ，Ｙ）（Ｎ，Ｔ）（Ｋ，Ｐ）Ｙ（Ｙ，Ａ，Ｖ）（Ａ，Ｇ，－）ＤＳＶＫＧ（配列番号９８）から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域ＣＤＲ２；
（ｉｉｉ）コンセンサス配列：（Ａ，Ｇ，Ｙ，Ｓ，Ｐ，－）（Ｐ，Ｗ，Ｓ，Ｒ）（Ｙ，Ａ，Ｈ）ＦＤ（Ｙ，Ｌ，Ｖ）（配列番号９９）から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域ＣＤＲ３；

（ｉｖ）コンセンサス配列：ＲＡＳＱ（Ｓ，Ｇ）（Ｉ，Ｖ）ＳＳ（Ｙ，Ｗ，Ａ）ＬＡ（配列番号１００）から選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域ＣＤＲ１；
（ｖ）コンセンサス配列：（Ｄ，Ａ）ＡＳ（Ｎ，Ｓ）（Ｒ，Ｌ）（Ａ，Ｑ，Ｅ）（Ｔ，Ｓ）（配列番号１０１）から選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域ＣＤＲ２；および
（ｖｉ）コンセンサス配列：ＱＱ（Ｒ，Ｙ，Ｆ）（Ｒ，Ｎ）（Ｔ，Ｓ，Ｎ）（Ｙ，Ｗ，－）（Ｐ，－）（Ｙ，Ｌ，Ｈ，－）（Ｔ，－）（配列番号１０２）から選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域ＣＤＲ３（ここで、「－」はその共通の位置にアミノ酸残基が存在しないというオプションを示す）
を含む重鎖および軽鎖可変領域ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、およびＣＤＲ３配列を含む単離抗体を提供する。

【００１５】
別の実施形態では、本発明の単離抗体は、ヒトＤＥＣ－２０５に結合し、配列番号４、１６、２８、４０、５２、６４、７０、７６、８８、およびその保存的配列修飾物からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域を含む。抗体は、配列番号１０、２２、３４、４６、５８、８２、およびその保存的配列修飾物からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域をさらに含むことができる。

【００１６】
なおさらなる実施形態では、本発明の単離抗体は、ヒトＤＥＣ－２０５に結合し、以下：
（ａ）それぞれ配列番号４および１０ならびにその保存的配列修飾物；
（ｂ）それぞれ配列番号１６および２２ならびにその保存的配列修飾物；
（ｃ）それぞれ配列番号２８および３４ならびにその保存的配列修飾物；
（ｄ）それぞれ配列番号４０および４６ならびにその保存的配列修飾物；
（ｅ）それぞれ配列番号５２および５８ならびにその保存的配列修飾物；および
（ｆ）それぞれ配列番号７６および８２ならびにその保存的配列修飾物
からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域および軽鎖可変領域を含む。

【００１７】
任意の上記配列と少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、少なくとも９９％、またはそれを超える配列同一性を有する重鎖および軽鎖可変領域を含む単離抗体も本発明に含まれる。上記で引用した値の中間の範囲（例えば、任意の上記配列と少なくとも８０～８５％、８５～９０％、９０～９５％、または９５～１００％の配列同一性を有する重鎖および軽鎖可変領域）も本発明に含まれることが意図される。

【００１８】
別の実施形態では、単離抗体は、ヒトＤＥＣ－２０５に結合し、配列番号４、１６、２８、４０、５２、６４、７０、７６、８８からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域または重鎖可変領域のフレームワーク領域中の少なくとも１つのアミノ酸残基が対応する生殖系列残基と置換された配列を含む。抗体は、配列番号１０、２２、３４、４６、５８、８２からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域または軽鎖可変領域のフレームワーク領域中の少なくとも１つのアミノ酸残基が対応する生殖系列残基と置換された配列をさらに含むことができる。置換アミノ酸残基には、抗原と直接非共有結合する残基；ＣＤＲに隣接する残基；ＣＤＲ相互作用残基；ＶＬ－ＶＨ界面に関与する残基、カノニカル残基、バーニアゾーン残基、または鎖間充填残基が含まれ得る。

【００１９】
本発明の抗体とＤＥＣ－２０５への結合を競合する単離抗体も本発明に含まれる。

【００２０】
本発明の抗体は、全長（例えば、以下のアイソタイプのいずれか：ＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３、ＩｇＧ４、ＩｇＭ、ＩｇＡ１、ＩｇＡ２、ＩｇＡｓｅｃ、ＩｇＤ、およびＩｇＥ）であり得る。あるいは、抗体は、抗原結合部分または単鎖抗体などのフラグメント（例えば、Ｆａｂ、Ｆ（ａｂ’）$_2$、Ｆｖ、単鎖Ｆｖフラグメント、単離相補性決定領域

（ＣＤＲ）、または２つ以上の単離ＣＤＲの組み合わせ）であり得る。

【００２１】

本発明はまた、抗原（フラグメント、エピトープ、および抗原決定基が含まれる）（病原体成分、腫瘍抗原、または自己抗原など）に連結した本発明の抗体を含む分子コンジュゲートを提供する。例えば、抗原には、腫瘍抗原（βｈＣＧ、ｇｐ１００またはＰｍｅｌ１７、ＣＥＡ、ｇｐ１００、ＴＲＰ－２、ＮＹ－ＢＲ－１、ＮＹ－ＣＯ－５８、ＭＮ（ｇｐ２５０）、イディオタイプ、チロシナーゼ、テロメラーゼ、ＳＳＸ２、ＭＵＣ－１、ＭＡＧＥ－Ａ３、および高分子量黒色腫関連抗原（ＨＭＷ－ＭＡＡ）ＭＡＲＴ１、メラン－Ａ、ＮＹ－ＥＳＯ－１、ＭＡＧＥ－１、ＭＡＧＥ－３、ＷＴ１、Ｈｅｒ２、メソセリン、または高分子量黒色腫関連抗原（ＨＭＷ－ＭＡＡ）など）が含まれ得る。

【００２２】

本明細書中で使用する場合、用語「腫瘍抗原」は、好ましくは、腫瘍細胞上に存在し（または会合し）、正常細胞では典型的にはそうではない任意の抗原または抗原決定基、正常（非腫瘍）細胞よりも大量に腫瘍細胞上に存在するか会合する抗原または抗原決定基、または正常（非腫瘍）細胞で見出されるものと異なる腫瘍細胞上に存在する抗原または抗原決定基を意味する。したがって、この用語には、腫瘍特異的抗原（腫瘍特異的膜抗原が含まれる）、腫瘍関連抗原（腫瘍関連膜抗原が含まれる）、腫瘍上の胚抗原、成長因子受容体、成長因子リガンド、および癌に関連する任意の他の抗原型が含まれる。腫瘍抗原は、例えば、上皮癌抗原、（例えば、乳房、胃腸管、肺）、前立腺特異的癌抗原（ＰＳＡ）または前立腺特異的膜抗原（ＰＳＭＡ）、膀胱癌種抗原、肺（例えば、小細胞肺）癌抗原、結腸癌抗原、卵巣癌抗原、脳腫瘍抗原、胃癌抗原、腎細胞癌抗原、膵臓癌抗原、肝臓癌抗原、食道癌抗原、頭頸部癌抗原、または結腸直腸癌抗原であり得る。

【００２３】

用語「フラグメント」は、全長タンパク質またはポリペプチドの一部（例えば、約８アミノ酸長と約１５００アミノ酸長との間、適切には約８アミノ酸長と約７４５アミノ酸長との間、適切には約８～約３００アミノ酸長（例えば、約８～約２００アミノ酸、約１０～約５０アミノ酸長、または１００アミノ酸長））であるアミノ酸配列をいう。

【００２４】

別の実施形態では、分子複合体は、治療薬（細胞毒性薬、免疫抑制薬、または化学療法薬など）をさらに含む。

【００２５】

本発明はまた、抗体と異なる結合特異性を有する第２の機能的部分に連結した本発明の抗体を含む二重特異性分子を提供する。

【００２６】

本明細書中に記載の抗体、分子コンジュゲート、または二重特異性分子および薬学的に有効なキャリアを含む組成物も提供する。組成物は、治療薬（例えば、免疫抑制薬または本発明の抗体と異なる抗体）をさらに含むことができる。

【００２７】

本発明の抗体をコードする核酸分子ならびにかかる核酸を含む発現ベクターおよびかかる発現ベクターを含む宿主細胞も本発明に含まれる。さらに、本発明は、ヒト免疫グロブリン重鎖および軽鎖導入遺伝子を含むトランスジェニックマウス（このマウスは本発明の抗体を発現する）ならびにかかるマウスから調製されたハイブリドーマ（このハイブリドーマは本発明の抗体を産生する）を提供する。

【００２８】

別の実施形態では、本発明は、抗原に連結した細胞上の受容体に結合する分子（例えば、前述のＤＥＣ－２０５抗体）の投与による、被験体における細胞（例えば、抗原提示可能な細胞（末梢血単核球（ＰＢＭＣ）、単球（ＴＨＰ－１など）、Ｂリンパ芽球様細胞（Ｃ１Ｒ．Ａ２、１５１８Ｂ－ＬＣＬなど）、および単球由来ＤＣなど））への抗原のターゲティング方法を提供する。１つの実施形態では、ターゲティングされた細胞（Ｂ細胞であり得る）は、ＭＨＣクラスＩ拘束性Ｔ細胞を刺激する。

【００２９】
本発明の抗体および他の組成物を使用して、被験体における抗原に対する免疫応答（例えば、Ｔ細胞媒介性免疫応答）を誘導または増強することもできる。したがって、１つの実施形態では、本発明は、抗原と抗原提示細胞上の受容体（例えば、ヒトＤＥＣ－２０５）に結合する抗体とのコンジュゲートの形成による、抗原に対するＣＴＬ応答を誘導または増強する方法を提供する。次いで、抗原に対するＣＴＬ応答（例えば、ＣＤ８$^{+}$細胞傷害性Ｔ細胞によって媒介される応答）を誘導または増強する様式で抗原を内在化し、プロセシングし、Ｔ細胞に提示するように、コンジュゲートをヒトＤＥＣ－２０５を発現する細胞とｉｎ　ｖｉｖｏまたはｅｘ　ｖｉｖｏのいずれかで接触させる。別の実施形態では、これは、抗原に対するヘルパーＴ細胞応答（例えば、ＣＤ４$^{+}$ヘルパーＴ細胞によって媒介される応答）を誘導するのにも役立つ。したがって、免疫応答を、ＭＨＣクラスＩ経路およびＭＨＣクラスＩＩ経路の両方を介して誘導することができる。ＤＥＣ－２０５を発現する細胞を、アジュバント、樹状細胞の増殖を刺激するサイトカイン、および／または免疫応答をさらに増強するための免疫賦活薬と接触させることもできる。

【００３０】
別の実施形態では、（ａ）抗体とＤＥＣ－２０５との間の複合体を形成させる条件下でサンプルを本発明の抗体と接触させることおよび（ｂ）サンプル中の抗体とＤＥＣ－２０５との間の複合体の形成を検出することによる、サンプル中のＤＥＣ－２０５またはＤＥＣ－２０５を発現する細胞の存在を検出する方法を提供する。

【００３１】
本発明の組成物（例えば、抗体、分子コンジュゲート、多重特異性分子、および二重特異性分子）および、任意選択的に、使用説明書を含むキットも本発明の範囲内である。キットは、少なくとも１つのさらなる試薬（サイトカインまたは補体など）または１つまたは複数の本発明のさらなるヒト抗体（例えば、第１のヒト抗体と異なる樹状細胞上のエピトープに結合する補体活性を有するヒト抗体）をさらに含むことができる。

【００３２】
本発明の他の特徴および利点は、以下の詳細な説明および特許請求の範囲から明らかであろう。

【図面の簡単な説明】

【００３３】
【図１】図１Ａ～１Ｉは、ＬＳＲ（商標）装置（ＢＤ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ、ＮＪ、ＵＳＡ）を使用した蛍光分析によるヒトＤＥＣ－２０５を発現するＣＨＯ－Ｓ細胞へのヒト抗ＤＥＣ－２０５抗体（３Ｄ６－２Ｆ４、３Ｄ６－４Ｃ８、３Ｇ９－２Ｄ２、５Ａ８－１Ｆ１、２Ｄ３－１Ｆ５－２Ａ９、３Ｃ７－３Ａ３、５Ｄ１２－５Ｇ１、１Ｇ６－１Ｇ６、および３Ａ４－１Ｃ１０）の結合を示すグラフを含む。
【図２】図２Ａ～２Ｉは、フローサイトメトリーによるヒト樹状細胞上のＤＥＣ－２０５へのヒト抗ＤＥＣ－２０５抗体（３Ｄ６－２Ｆ４、３Ｄ６－４Ｃ８、３Ｇ９－２Ｄ２、５Ａ８－１Ｆ１、２Ｄ３－１Ｆ５－２Ａ９、３Ｃ７－３Ａ３、５Ｄ１２－５Ｇ１、１Ｇ６－１Ｇ６、および３Ａ４－１Ｃ１０）の結合を示すグラフを含む。
【図３】図３は、ＥＬＩＳＡを使用してＤＥＣ－２０５へのヒト抗ＤＥＣ－２０５抗体（３Ｄ６－２Ｆ４、３Ｄ６－４Ｃ８、３Ｇ９－２Ｄ２、５Ａ８－１Ｆ１、２Ｄ３－１Ｆ５－２Ａ９、３Ｃ７－３Ａ３、５Ｄ１２－５Ｇ１、１Ｇ６－１Ｇ６、および３Ａ４－１Ｃ１０）の結合を示したグラフである。
【図４】図４Ａ～４Ｃは、共焦点顕微鏡法を使用してコントロール（ＦＩＴＣ－ヒトＩｇＧ１）と比較したＦＩＴＣ標識ＨｕＭａｂ（ＦＩＴＣ－３Ｇ９－２Ｄ２）の樹状細胞への内在化を示す。
【図５】図５は、抗ＤＥＣ－２０５抗体（３Ｄ６－２Ｆ４、３Ｄ６－４Ｃ８、３Ｇ９－２Ｄ２、５Ａ８－１Ｆ１、２Ｄ３－１Ｆ５－２Ａ９、３Ｃ７－３Ａ３、５Ｃ３－２－３Ｆ６、１Ｅ６－３Ｄ１０）のＶＨおよびＶＫ配列を用いたヒトＶＨおよびＶＫ生殖系列配列のアラインメントである。図は、それぞれ、出現順に、配列番号９２、３４、４６、５８、

９３、８２、２２、９４、１０、９５、４、１６、１０３～１０５、７６、８８、９６、１０６、および７０を開示する。
【図６】図６は、ヒト抗ＤＥＣ－２０５抗体（３Ｄ６－２Ｆ４、３Ｄ６－４Ｃ８、３Ｇ９－２Ｄ２、５Ａ８－１Ｆ１、３Ｃ７－３Ａ３、２Ｄ３－１Ｆ５－２Ａ９、１Ｅ６－３Ｄ１０、５Ｃ３－２－３Ｆ６、５Ｄ１２－５Ｇ１）のＶＨ　ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、およびＣＤＲ３配列のアラインメントを示す。
【図７】図７は、ヒト抗ＤＥＣ－２０５抗体（３Ｄ６－２Ｆ４、３Ｄ６－４Ｃ８、３Ｇ９－２Ｄ２、５Ａ８－１Ｆ１、３Ｃ７－３Ａ３、５Ｃ３－２－３Ｆ６）のヒト抗ＤＥＣ－２０５　ＨｕＭａｂ　ＶＫ　ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、およびＣＤＲ３配列のアラインメントを示す。
【図８】図８は、抗ＤＥＣ－２０５／抗原融合ＡＰＣターゲティングしたワクチン構築物の例の略図を示す。
【図９Ａ】図９ＡおよびＢは、末梢血の単核球（ＰＢＭＣ）、単球（ＴＨＰ－１）、Ｂリンパ芽球様細胞（Ｃ１Ｒ．Ａ２、１５１８Ｂ－ＬＣＬ）、および単球由来ＤＣにおける３Ｇ９－βｈＣＧ　ＡＰＣターゲティングしたワクチンコンジュゲートを使用した抗原特異的活性を示すグラフを含む。
【図９Ｂ】図９ＡおよびＢは、末梢血の単核球（ＰＢＭＣ）、単球（ＴＨＰ－１）、Ｂリンパ芽球様細胞（Ｃ１Ｒ．Ａ２、１５１８Ｂ－ＬＣＬ）、および単球由来ＤＣにおける３Ｇ９－βｈＣＧ　ＡＰＣターゲティングしたワクチンコンジュゲートを使用した抗原特異的活性を示すグラフを含む。
【発明を実施するための形態】
【００３４】
発明の詳細な説明
本発明は、ヒトＤＥＣ－２０５に結合する抗体（例えば、ヒト抗体）を提供する。一定の実施形態では、抗体は、種々の機能的性質（例えば、表面プラズモン共鳴によって測定したところ、少なくとも$10^{8}M^{-1}$の親和定数でヒトＤＥＣ－２０５に結合すること、ＤＥＣ－２０５を発現するヒト樹状細胞への結合後の内在化、抗体に連結することができる抗原に対するヒトＴ細胞応答（例えば、ＣＤ４＋、ＣＤ８＋（ＣＴＬ）、またはＮＫＴ細胞応答）（例えば、ＭＨＣクラスＩおよびクラスＩＩ経路の両方によって媒介されるＣＴＬ応答）の生成および増強、樹状細胞中の抗原プロセシング区画への局在化、末梢$CD8^{+}$Ｔ細胞寛容の誘引、または非ヒト霊長類または他の種の樹状細胞上のＤＥＣ－２０５との交差反応）を示す。他の実施形態では、抗体は、特定のヒト生殖系列遺伝子を使用し、特定の構造的特徴（特定のＣＤＲ配列など）を含む、重鎖および軽鎖可変領域を含む。本発明は、さらに、かかる抗体、かかる抗体を含む分子コンジュゲートおよび二重特異性分子抗体、ならびに抗体を含む組成物の作製方法を提供する。本発明はまた、例えば、本発明の抗ＤＥＣ－２０５抗体の使用による、ｉｎ　ｖｉｔｒｏまたはｉｎ　ｖｉｖｏのいずれかでの抗原提示細胞（例えば、末梢血単核球（ＰＢＭＣ）、単球（ＴＨＰ－１など）、Ｂリンパ芽球様細胞（Ｃ１Ｒ．Ａ２、１５１８Ｂ－ＬＣＬなど）、および単球由来ＤＣへの抗原のターゲティング方法を提供する。本発明の方法には、被験体における抗原に対する免疫応答（例えば、Ｔ細胞媒介性免疫応答）を誘導および増強する方法も含まれる。かかる方法は、ＭＨＣ－Ｉコンジュゲートおよび／またはＭＨＣ－ＩＩコンジュゲートの成分としての抗原提示細胞（例えば、ＤＥＣ－２０５）上の受容体を介した抗原提示を含む（例えば、Ｔ細胞応答は、ＣＤ４＋およびＣＤ８＋Ｔ細胞の両方または細胞傷害性Ｔ細胞またはヘルパーＴ細胞によって媒介される）。１つの実施形態では、ターゲティングされた細胞（Ｂ細胞であり得る）は、ＭＨＣクラスＩ拘束性Ｔ細胞を刺激する。
【００３５】
本発明をより容易に理解することができるように、一定の用語を最初に定義する。さらなる定義を、詳細な説明に記載する。
【００３６】
用語「ヒト樹状細胞および上皮細胞２０５受容体」（ＤＥＣ－２０５）には、細胞によ

って天然に発現されるＤＥＣ－２０５の任意のバリアントまたはイソ型が含まれる（例えば、受入番号ＡＡＣ１７６３６でＧＥＮＢＡＮＫ（登録商標）に寄託されたヒトＤＥＣ－２０５および受入番号ＡＡＬ８１７２２でＧＥＮＢＡＮＫ（登録商標）に寄託されたマウスＤＥＣ－２０５）。したがって、本発明のヒト抗体は、ヒト以外の種由来のＤＥＣ－２０５と交差反応することができる。あるいは、抗体はヒトＤＥＣ－２０５に特異的であり得、他の種といかなる交差反応示さないかもしれない。ＤＥＣ－２０５またはその任意のバリアントおよびイソ型を、これらを天然に発現する細胞または組織（例えば、ヒト、マウス、およびカニクイザルの細胞）から単離することができるか、当該分野で周知の技術および／または本明細書中に記載の技術を使用して組換えで産生することができる。

【００３７】

Ｇｅｎｂａｎｋ（登録商標）（受入番号ＡＡＣ１７６３６Ａ）は、以下のヒトＤＥＣ－２０５のアミノ酸配列を報告している（配列番号１）：

【００３８】

【数１】

1 mrtgwatprr pagllmllfw ffdlaepsgr aandpftivh gntgkcikpv ygwivaddcd
61 etedklwkwv sqhrlfhlhs qkclglditk svnelrmfsc dssamlwwkc ehhslygaar
121 yrlalkdghg taisnasdvw kkggseeslc dqpyheiytr dgnsygrpce fpflidgtwh
181 hdcildedhs gpwcattlny eydrkwgicl kpengcednw ekneqfgscy qfntqtalsw
241 keayvscqnq gadllsinsa aeltylkeke giakifwigl nqlysargwe wsdhkplnfl
301 nwdpdrpsap tiggsscarm daesglwqsf sceaqlpyvc rkplnntvel tdvwtysdtr
361 cdagwlpnng fcyllvnesn swdkahakck afssdlisih sladvevvvt klhnedikee
421 vwiglknini ptlfqwsdgt evtltywden epnvpynktp ncvsylgelg qwkvqsceek
481 lkyvckrkge klndassdkm cppdegwkrh getcykiyed evpfgtncnl titsrfeqey
541 lndlmkkydk slrkyfwtgl rdvdscgeyn watvggrrra vtfsnwnfle paspggcvam
601 stgksvgkwe vkdcrsfkal sickkmsgpl gpeeaspkpd dpcpegwqsf paslscykvf
661 haerivrkrn weeaerfcqa lgahlssfsh vdeikeflhf ltdqfsgqhw lwiglnkrsp
721 dlqgswqwsd rtpvstiimp nefqqdydir dcaavkvfhr pwrrgwhfyd drefiylrpf
781 acdtklewvc qipkgrtpkt pdwynpdrag ihgppliieg seywfvadlh lnyeeavlyc
841 asnhsflati tsfvglkaik nkianisgdg qkwwirisew piddhftysr ypwhrfpvtf
901 geeclymsak twlidlgkpt dcstklpfic ekynvsslek yspdsaakvq cseqwipfqn
961 kcflkikpvs ltfsqasdtc hsyggtlpsv lsqieqdfit sllpdmeatl wiglrwtaye
1021 kinkwtdnre ltysnfhpll vsgrlripen ffeeesryhc alilnlqksp ftgtwnftsc
1081 serhfvslcq kysevksrqt lqnasetvky lnnlykiipk tltwhsakre clksnmqlvs
1141 itdpyqqafl svqallhnss lwiglfsqdd elnfgwsdgk rlhfsrwaet ngqledcvvl
1201 dtdgfwktvd cndnqpgaic yysgneteke vkpvdsvkcp spvlntpwip fqnccynfii
1261 tknrhmattq devhtkcqkl npkshilsir dekennfvle qllyfnymas wvmlgityrn
1321 nslmwfdktp lsythwragr ptiknekfla glstdgfwdi qtfkvieeav yfhqhsilac
1381 kiemvdykee hnttlpqfmp yedgiysviq kkvtwyealn mcsqsgghla svhnqngqlf
1441 ledivkrdgf plwvglsshd gsessfewsd gstfdyipwk gqtspgncvl ldpkgtwkhe
1501 kcnsvkdgai cykptkskkl srltyssrcp aakengsrwi qykghcyksd qalhsfseak
1561 klcskhdhsa tivsikdede nkfvsrlmre nnnitmrvwl glsqhsvdqs wswldgsevt
1621 fvkwenksks gvgrcsmlia snetwkkvec ehgfgrvvck vplgpdytai aiivatlsil
1681 vlmggliwfl fqrhrlhlag fssvryaqgv nedeimlpsf hd

ヒトＤＥＣ－２０５の主なドメインを以下のように示すことができる。
Ｎ－ＣＲ－ＦＮＩＩ－ＣＴＬＤ１－ＣＴＬＤ２－ＣＴＬＤ３－ＣＴＬＤ４－ＣＴＬＤ５－ＣＴＬＤ６－ＣＴＬＤ７－ＣＴＬＤ８－ＣＴＬＤ９－ＣＴＬＤ１０－ＴＭＣ
式中、ＮはＮ末端であり、ＣＲは「Ｃｙｓリッチ」ドメインを示し、ＦＮＩＩは「フィブロネクチンＩＩ型」ドメインを示し、ＣＴＬＤ１～ＣＴＬＤ１０は１０の「Ｃ型レクチン様」ドメインを示し、ＴＭＣは膜貫通ドメインおよび細胞質ドメインを示す。

【００３９】

本明細書中で使用する場合、用語「樹状細胞」には、未熟および成熟樹状細胞ならびに樹状細胞に分化することができる関連骨髄性前駆細胞または関連抗原提示細胞（例えば、

単球およびマクロファージ）（樹状細胞と同様に抗原を発現するという点で）が含まれる。本明細書中で使用する場合、用語「関連する」には、一般的な前駆細胞または細胞系譜由来の細胞が含まれる。１つの実施形態では、樹状細胞への本発明の抗体の結合は、定義された機能を有する分子または細胞（例えば、腫瘍細胞、エフェクター細胞、微生物病原体）の樹状細胞へのターゲティングによって樹状細胞の成長および／または機能への影響を媒介する。さらなる実施形態では、樹状細胞への本発明の抗体の結合により、樹状細胞によって抗体が内在化する。

【００４０】

「ＭＨＣ分子」には、２つの分子型（ＭＨＣクラスＩおよびＭＨＣクラスＩＩ）が含まれる。ＭＨＣクラスＩ分子は特異的ＣＤ８$^+$Ｔ細胞に抗原を提示し、ＭＨＣクラスＩＩ分子は特異的ＣＤ４$^+$Ｔ細胞に抗原を提示する。ＡＰＣに外因的に送達された抗原は、主にＭＨＣクラスＩＩとの会合のためにプロセシングされる。対照的に、ＡＰＣに内因的に送達された抗原は、主にＭＨＣクラスＩとの会合のためにプロセシングされる。しかし、特異的条件下で、ＤＣは、ＭＨＣクラスＩＩ分子に加えてＭＨＣクラスＩ分子への結合のために内部区画に外因性抗原を接近させる固有の能力を有する。この過程は、「クロスプライミング」または「交差提示」と呼ばれる。

【００４１】

本明細書中で使用する場合、用語「免疫賦活薬」は、ＡＰＣ（ＤＣおよびマクロファージなど）を刺激することができる化合物をいう。例えば、本発明での使用に適切な免疫賦活薬は、ＡＰＣの成熟過程が加速され、ＡＰＣ増殖が増加し、そして／または共刺激分子（例えば、ＣＤ８０、ＣＤ８６、ＩＣＡＭ－１、ＭＨＣ分子、およびＣＣＲ７）および炎症促進性サイトカイン（例えば、ＩＬ－１β、ＩＬ－６、ＩＬ－１２、ＩＬ－１５、およびＩＦＮ－γ）の動員または放出が上方制御されるようにＡＰＣを刺激することができる。適切な免疫賦活薬はまた、Ｔ細胞増殖を走化させることができる。かかる免疫賦活薬には、ＣＤ４０リガンド；サイトカイン（ＩＦＮ－α、ＩＦＮ－β、ＩＦＮ－γ、およびＩＬ－２など）；コロニー刺激因子（Ｇ－ＣＳＦ（顆粒球コロニー刺激因子）およびＧＭ－ＣＳＦ（顆粒球－マクロファージコロニー刺激因子）など）；抗ＣＴＬＡ－４抗体；ＬＰＳ（内毒素）；ｓｓＲＮＡ；ｄｓＲＮＡ；カルメット・ゲラン桿菌（ＢＣＧ）；塩酸レバミソール；および静脈内免疫グロブリンが含まれるが、これらに限定されない。１つの実施形態では、免疫賦活薬は、Ｔｏｌｌ様受容体（ＴＬＲ）アゴニストであり得る。例えば、免疫賦活薬は、ＴＬＲ３アゴニスト（二本鎖イノシン：シトシンポリヌクレオチド（Ｐｏｌｙ　Ｉ：Ｃ（例えば、Ｈｅｍｉｓｐｈｅｒｘ　Ｂｉｐｈａｒｍａ，ＰＡ，ＵＳのＡｍｐｌｉｇｅｎ（商標）として入手可能））またはＰｏｌｙ　Ａ：Ｕ）など）；ＴＬＲ４アゴニスト（モノホスホリルリピドＡ（ＭＰＬ）またはＲＣ－５２９（例えば、ＧＳＫ、ＵＫから入手可能）など）；ＴＬＲ５アゴニスト（フラジェリンなど）；ＴＬＲ７またはＴＬＲ８アゴニスト（イミダゾキノリンＴＬＲ７またはＴＬＲ８アゴニスト（例えば、イミキモド（例えば、Ａｌｄａｒａ（商標））またはレシキモドおよび関連イミダゾキノリン薬（例えば、３Ｍ　Ｃｏｒｐｏｒａｔｉｏｎから入手可能））など）；またはＴＬＲ９アゴニスト（非メチル化ＣｐＧモチーフ（いわゆる「ＣｐＧｓ」（例えば、Ｃｏｌｅｙ　Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌから入手可能））を有するデオキシヌクレオチドなど）であり得る。かかる免疫賦活薬を、抗体および本発明の構築物と同時、個別、または連続的に投与することができ、抗体および構築物に物理的に連結することもできる。

【００４２】

本明細書中で使用する場合、用語「連結する」は、２つ以上の分子の会合をいう。連結は、共有性または非共有性であり得る。連結はまた、遺伝的であり得る（すなわち、組換え融合する）。かかる連結を、広範な種々の当該分野で認識された技術（化学的抱合および組換えタンパク質産生など）を使用して行うことができる。

【００４３】

本明細書中で使用する場合、用語抗原「交差提示」は、ＡＰＣ上のＭＨＣクラスＩおよびクラスＩＩ分子を介したＴ細胞への外因性タンパク質抗原の提示をいう。

【００４４】
本明細書中で使用する場合、用語「Ｔ細胞媒介応答」は、Ｔ細胞（エフェクターＴ細胞（例えば、ＣＤ８$^{+}$細胞）およびヘルパーＴ細胞（例えば、ＣＤ４$^{+}$細胞）が含まれる）によって媒介される任意の応答をいう。Ｔ細胞媒介応答には、例えば、Ｔ細胞の細胞傷害性および増殖が含まれる。
【００４５】
本明細書中で使用する場合、用語「細胞傷害性Ｔリンパ球（ＣＴＬ）応答」は、細胞傷害性Ｔ細胞によって誘導される免疫応答をいう。ＣＴＬ応答は、主にＣＤ８$^{+}$Ｔ細胞によって媒介される。
【００４６】
本明細書中で言及される用語「抗体」には、全抗体および任意の抗原結合フラグメント（すなわち、「抗原結合部分」）またはその単鎖が含まれる。「抗体」は、１つの好ましい実施形態では、ジスルフィド結合によって相互連結した少なくとも２つの重（Ｈ）鎖および２つの軽（Ｌ）鎖またはその抗原結合部分を含む糖タンパク質をいう。各重鎖は、重鎖可変領域（本明細書中でV_Hと略す）および重鎖定常領域から構成される。重鎖定常領域は、３つのドメイン（ＣＨ１、ＣＨ２、およびＣＨ３）から構成される。各軽鎖は、軽鎖可変領域（本明細書中でV_Lと略す）および軽鎖定常領域から構成される。軽鎖定常領域は、１つのドメインＣＬから構成される。V_H領域およびV_L領域を、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散在した相補性決定領域（ＣＤＲ）と呼ばれる超可変領域にさらに分類することができる。各V_HおよびV_Lは、アミノ末端からカルボキシ末端で以下の順序で配置された３つのＣＤＲおよび４つのＦＲから構成される：ＦＲ１、ＣＤＲ１、ＦＲ２、ＣＤＲ２、ＦＲ３、ＣＤＲ３、ＦＲ４。重鎖および軽鎖の可変領域は、抗原と相互作用する結合ドメインを含む。抗体の定常領域は、宿主組織または因子（免疫系の種々の細胞（例えば、エフェクター細胞）および古典的補体系の第１の成分（Ｃ１ｑ）が含まれる）への免疫グロブリンの結合を媒介することができる。
【００４７】
本明細書中で使用する場合、用語、抗体の「抗原結合部分」（または簡潔に「抗体部分」）は、抗原（例えば、ヒトＤＥＣ－２０５）に特異的に結合する能力を保持する抗体の１つまたは複数のフラグメントをいう。抗体の抗原結合機能を全長抗体のフラグメントによって実行することができることが示されている。用語、抗体の「抗原結合部分」内に含まれる結合フラグメントの例には、（ｉ）Ｆａｂフラグメント（V_L、V_H、ＣＬ、およびＣＨ１ドメインからなる１価のフラグメント）；（ｉｉ）Ｆ（ａｂ’）$_2$フラグメント（ヒンジ領域でジスルフィド架橋によって連結した２つのＦａｂフラグメントを含む２価のフラグメント）；（ｉｉｉ）V_HおよびＣＨ１ドメインからなるＦｄフラグメント；（ｉｖ）抗体の単一アームのV_LおよびV_HドメインからなるＦｖフラグメント、（ｖ）V_HドメインからなるｄＡｂフラグメント（Ｗａｒｄら，（１９８９）Ｎａｔｕｒｅ ３４１：５４４－５４６）；および（ｖｉ）単離相補性決定領域（ＣＤＲ）または（ｖｉｉ）合成リンカーによって任意選択的に連結することができる２つ以上の単離ＣＤＲの組み合わせが含まれる。さらに、Ｆｖフラグメントの２つのドメイン（V_LおよびV_H）が個別の遺伝子によってコードされるにもかかわらず、組換え法を使用して合成リンカーによってこれらを連結して単一のタンパク質鎖として作製することができ、ここで、V_LおよびV_H領域が対合して１価の分子（単鎖Ｆｖ（ｓｃＦｖ）として公知；例えば、Ｂｉｒｄら（１９８８）Ｓｃｉｅｎｃｅ ２４２：４２３－４２６およびＨｕｓｔｏｎら（１９８８）Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ８５：５８７９－５８８３を参照のこと）を形成する。かかる単鎖抗体は、用語、抗体の「抗原結合部分」の範囲内に含まれることも意図される。これらの抗体フラグメントは当業者に公知の従来技術を使用して得られ、フラグメントをインタクトな抗体と同一の様式での有用性についてスクリーニングする。抗原結合部分を、組換えＤＮＡ技術またはインタクトな免疫グロブリンの酵素的または化学的切断によって産生することができる。
【００４８】

「二重特異性」または「二機能性抗体」は、２つの異なる重鎖／軽鎖対および２つの異なる結合部位を有する人工ハイブリッド抗体である。二重特異性抗体を、種々の方法（ハイブリドーマの融合またはＦａｂ’フラグメントの連結が含まれる）によって産生することができる。例えば、Ｓｏｎｇｓｉｖｉｌａｉ　＆　Ｌａｃｈｍａｎｎ，Ｃｌｉｎ．Ｅｘｐ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．７９：３１５－３２１（１９９０）；Ｋｏｓｔｅｌｎｙら，Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１４８，１５４７－１５５３（１９９２）を参照のこと。

【００４９】

本明細書中で使用する場合、用語「モノクローナル抗体」は、特定のエピトープに対して単一の結合特異性および親和性を示す抗体をいう。したがって、用語「ヒトモノクローナル抗体」は、ヒト生殖系列免疫グロブリン配列由来の可変領域および任意選択的な定常領域を有する単一の結合特異性を示す抗体をいう。１つの実施形態では、ヒトモノクローナル抗体を、不死化細胞に融合したヒト重鎖導入遺伝子および軽鎖導入遺伝子を含むゲノムを有するトランスジェニック非ヒト動物（例えば、トランスジェニックマウス）から得たＢ細胞を含むハイブリドーマによって産生する。

【００５０】

本明細書中で使用する場合、用語「組換えヒト抗体」には、組換え手段によって調製、発現、作製、または単離された全てのヒト抗体（（ａ）ヒト免疫グロブリン遺伝子を導入または染色体導入された動物（例えば、マウス）またはこれから調製されたハイブリドーマから単離した抗体、（ｂ）抗体を発現するように形質転換された宿主細胞（例えば、トランスフェクトーマ）から単離した抗体、（ｃ）組換えコンビナトリアルヒト抗体ライブラリーから単離した抗体、および（ｄ）ヒト免疫グロブリン遺伝子配列の他のＤＮＡ配列へのスプライシングを含む任意の他の手段によって調製、発現、作製、または単離された抗体など）が含まれる。かかる組換えヒト抗体は、生殖系列遺伝子によってコードされる特定のヒト生殖系列免疫グロブリン配列を使用する可変領域および定常領域を含むが、例えば、抗体成熟中に起こるその後の再配置および変異を含む。当該分野で公知のように（例えば、Ｌｏｎｂｅｒｇ（２００５）Ｎａｔｕｒｅ　Ｂｉｏｔｅｃｈ．２３（９）：１１１７－１１２５を参照のこと）、可変領域は、再配置されて外来抗原に特異的な抗体を形成する種々の遺伝子によってコードされる抗原結合ドメインを含む。再配置に加えて、可変領域を、外来抗原に対する抗体の親和性を増加させるための複数の単一アミノ酸変化（体細胞変異または超変異と呼ばれる）によってさらに改変することができる。定常領域は、抗原に対するさらなる応答を変化させるであろう（すなわち、アイソタイプスイッチ）。したがって、抗原に応答して軽鎖および重鎖免疫グロブリンポリペプチドをコードする再配置された体細胞変異核酸分子は元の核酸分子と配列が同一でなくて良いが、その代わりに、実質的に同一であるか類似しているであろう（すなわち、少なくとも８０％同一）。

【００５１】

用語「ヒト抗体」には、ヒト生殖系列の免疫グロブリン配列の可変領域および定常領域（存在する場合）を有する抗体が含まれる。本発明のヒト抗体は、ヒト生殖系列の免疫グロブリン配列によってコードされないアミノ酸配列（例えば、ｉｎ　ｖｉｔｒｏでのランダムまたは部位特異的変異誘発またはｉｎ　ｖｉｖｏでの体細胞変異によって導入される変異）を含むことができる（Ｌｏｎｂｅｒｇ，Ｎ．ら（１９９４）Ｎａｔｕｒｅ　３６８（６４７４）：８５６－８５９）；Ｌｏｎｂｅｒｇ，Ｎ．（１９９４）Ｈａｎｄｂｏｏｋ　ｏｆ　Ｅｘｐｅｒｉｍｅｎｔａｌ　Ｐｈａｒｍａｃｏｌｏｇｙ　１１３：４９－１０１；Ｌｏｎｂｅｒｇ，Ｎ．ａｎｄ　Ｈｕｓｚａｒ，Ｄ．（１９９５）Ｉｎｔｅｒｎ．Ｒｅｖ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．Ｖｏｌ．１３：６５－９３，およびＨａｒｄｉｎｇ，Ｆ．ａｎｄ　Ｌｏｎｂｅｒｇ，Ｎ．（１９９５）Ａｎｎ．Ｎ．Ｙ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ　７６４：５３６－５４６を参照のこと）。しかし、用語「ヒト抗体」には、別の哺乳動物種（マウスなど）の生殖系列由来のＣＤＲ配列がヒトフレームワーク配列上にグラフティングされた抗体（すなわち、ヒト化抗体）は含まれない。

【００５２】

本明細書中で使用する場合、「異種抗体」を、かかる抗体を産生するトランスジェニック非ヒト生物に関して定義する。この用語は、トランスジェニック非ヒト動物からならず、一般にトランスジェニック非ヒト動物以外の種に由来する生物で見出されるものに対応するアミノ酸配列またはコードする核酸配列を有する抗体をいう。

【００５３】

本明細書中で使用する場合、「単離抗体」は、異なる抗原特異性を有する他の抗体を実質的に含まない抗体をいうことが意図される（例えば、ヒトＤＥＣ－２０５に特異的に結合する単離抗体は、ヒトＤＥＣ－２０５以外の抗原に特異的に結合する抗体を実質的に含まない）。しかし、エピトープに特異的に結合する単離抗体は、異なる種由来の他のＤＥＣ－２０５タンパク質と交差反応性を有することができる。しかし、抗体は、好ましくは、ヒトＤＥＣ－２０５に常に結合する。さらに、単離抗体は、典型的には、他の細胞材料および／または化学物質を実質的に含まない。本発明の１つの実施形態では、異なるＤＥＣ－２０５特異性を有する「単離」抗体の組み合わせを、充分に定義された組成物中で組み合わせる。

【００５４】

用語「エピトープ」または「抗原決定基」は、免疫グロブリンまたは抗体が特異的に結合する抗原上の部位をいう。エピトープを、タンパク質の三次折り畳みによって並置された連続アミノ酸または不連続のアミノ酸の両方から形成することができる。連続アミノ酸から形成されたエピトープは、典型的には、変性溶媒への曝露の際に保持されるのに対して、三次折り畳みによって形成されたエピトープは、典型的には、変性溶媒での処理の際に喪失される。エピトープは、典型的には、固有の空間的高次構造中に少なくとも３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、または１５のアミノ酸を含む。エピトープの空間的高次構造の決定方法には、当該分野の技術および本明細書中に記載の技術（例えば、Ｘ線結晶学および二次元核磁気共鳴（例えば、Ｅｐｉｔｏｐｅ Ｍａｐｐｉｎｇ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｍｅｔｈｏｄｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ，Ｖｏｌ．６６，Ｇ．Ｅ．Ｍｏｒｒｉｓ，Ｅｄ．（１９９６）を参照のこと））が含まれる。この場合、エピトープは、好ましくは、ヒトＤＥＣ－２０５の細胞外ドメイン（例えば、システインリッチドメイン、ＦｎＩＩドメイン、またはヒトＤＥＣ－２０５の１０のＣ型レクチン様ドメインのうちの１つまたは複数の１つまたは組み合わせ）中に存在する。

【００５５】

本明細書中で使用する場合、用語「特異的結合」、「選択的結合」、「選択的に結合する」、および「特異的に結合する」は、所定の抗原上のエピトープに結合する抗体をいう。典型的には、抗体は、分析物として組換えヒトＤＥＣ－２０５およびリガンドとして抗体を使用したＢＩＡＣＯＲＥ２０００装置での表面プラズモン共鳴（ＳＰＲ）テクノロジーによって決定した場合に、およそ10^{-7}Ｍ未満（およそ10^{-8}Ｍ、10^{-9}Ｍ、もしくは10^{-10}Ｍ未満など）またはそれ以下の平衡解離定数（K_D）で結合し、所定の抗原または密接に関連する抗原以外の非特異的抗原（例えば、ＢＳＡ、カゼイン）への結合についてのその親和性の少なくとも２倍の親和性で所定の抗原に結合する。句「抗原を認識する抗体」および「抗原に特異的な抗体」を、本明細書中で、用語「抗原に特異的に結合する抗体」と交換可能に使用する。

【００５６】

同一のエピトープに結合する抗体および／または本明細書中に記載の抗体とヒトＤＥＣ－２０５への結合を競合する抗体も本発明に含まれる。同一のエピトープを認識するか結合を競合する抗体を、日常的な技術を使用して同定することができる。かかる技術には、例えば、一方の抗体が標的抗原への別の抗体の結合を遮断する能力を示す免疫アッセイ（すなわち、競合的結合アッセイ）が含まれる。競合的結合を、試験下で免疫グロブリンがＤＥＣ－２０５などの共通抗原への基準抗体の特異的結合を阻害するアッセイで決定する。多数の競合的結合アッセイ型が公知である。例えば、固相直接または間接放射免疫アッセイ（ＲＩＡ）、固相直接または間接酵素免疫アッセイ（ＥＩＡ）、サンドイッチ競合ア

ッセイ（Ｓｔａｈｌｉら，Ｍｅｔｈｏｄｓ ｉｎ Ｅｎｚｙｍｏｌｏｇｙ ９：２４２（１９８３）を参照のこと）；固相直接ビオチン－アビジンＥＩＡ（Ｋｉｒｋｌａｎｄら，Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１３７：３６１４（１９８６）を参照のこと）；固相直接標識アッセイ、固相直接標識サンドイッチアッセイ（Ｈａｒｌｏｗ ａｎｄ Ｌａｎｅ，Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ：Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ，Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ Ｐｒｅｓｓ（１９８８）を参照のこと）；Ｉ－１２５標識を使用した固相直接標識ＲＩＡ（Ｍｏｒｅｌら，Ｍｏｌ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．２５（１）：７（１９８８）を参照のこと）；固相直接ビオチン－アビジンＥＩＡ（Ｃｈｅｕｎｇら，Ｖｉｒｏｌｏｇｙ １７６：５４６（１９９０））；および直接標識ＲＩＡ（Ｍｏｌｄｅｎｈａｕｅｒら，Ｓｃａｎｄ．Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．３２：７７（１９９０））。典型的には、かかるアッセイは、これら（非標識試験免疫グロブリンおよび標識基準免疫グロブリン）のいずれかを保有する固体表面または細胞に結合した精製抗原の使用を含む。競合的阻害を、試験免疫グロブリンの存在下での固体表面または細胞に対する標識の結合量の決定によって測定する。通常、試験免疫グロブリンは過剰に存在する。通常、競合する抗体が過剰に存在する場合、この抗体は、共通の抗原への基準抗体の特異的結合を少なくとも５０～５５％、５５～６０％、６０～６５％、６５～７０％、７０～７５％、またはそれを超えて阻害するであろう。

【００５７】

他の技術には、例えば、エピトープマッピング法（エピトープの原子分解が得られる抗原：抗体複合体結晶のＸ線分析など）が含まれる。他の方法は、抗原フラグメントまたは抗原の変異したバリエーションへの抗体の結合をモニタリングし、抗原配列内のアミノ酸残基の修飾に起因する結合の喪失がエピトープ成分を示すとしばしば見なされる。さらに、コンピュータによる組み合わせエピトープマッピング方法も使用することができる。これらの方法は、目的の抗体がコンビナトリアルファージディスプレイペプチドライブラリー由来の特異的な短いペプチドをアフィニティ分離する能力に依存する。次いで、ペプチドを、ペプチドライブラリーをスクリーニングするために使用する抗体に対応するエピトープの決定のためのリードと見なす。エピトープマッピングのための計算アルゴリズムも開発されており、これにより、高次構造の不連続なエピトープがマッピングされることが示されている。

【００５８】

本明細書中で使用する場合、用語「K_D」は、特定の抗体－抗原相互作用の解離平衡定数をいうことを意図する。典型的には、本発明のヒト抗体は、分析物としての組換えヒトＤＥＣ－２０５およびリガンドとしての抗体を使用したＢＩＡＣＯＲＥ２０００装置での表面プラズモン共鳴（ＳＰＲ）テクノロジーによって決定した場合に解離平衡定数（K_D）およそ10^{-8}Ｍ以下（10^{-9}Ｍまたは10^{-10}Ｍ未満またはさらに低い値など）でＤＥＣ－２０５に結合する。

【００５９】

本明細書中で使用する場合、用語「ｋｄ」は、抗体／抗原複合体からの抗体の解離についてのｏｆｆ速度定数をいうことが意図される。

【００６０】

本明細書中で使用する場合、用語「ｋａ」は、抗体の抗原との会合についてのｏｎ速度定数をいうことが意図される。

【００６１】

本明細書中で使用する場合、用語「ＥＣ５０」は、ｉｎ ｖｉｔｒｏまたはｉｎ ｖｉｖｏアッセイのいずれかにおいて、最大応答の５０％（すなわち、最大応答とベースラインとの間の中間）である応答を誘導する抗体またはその抗原結合部分の濃度をいう。

【００６２】

本明細書中で使用する場合、「アイソタイプ」は、重鎖定常領域遺伝子によってコードされる抗体クラス（例えば、ＩｇＭまたはＩｇＧ１）をいう。１つの実施形態では、本発明のヒトモノクローナル抗体は、ＩｇＧ１アイソタイプの抗体である。別の実施形態では

、本発明のヒトモノクローナル抗体は、ＩｇＧ２アイソタイプの抗体である。
【００６３】
用語「固定化ＤＥＣ－２０５に結合する」は、本発明のヒト抗体が、例えば、細胞表面上に発現したか固体支持体に付着したＤＥＣ－２０５に結合する能力をいう。
【００６４】
本明細書中で使用する場合、用語「交差反応する」は、本発明の抗体が異なる種由来のＤＥＣ－２０５に結合する能力をいう。例えば、ヒトＤＥＣ－２０５に結合する本発明の抗体はまた、カニクイザルＤＥＣ－２０５に結合することができる。本明細書中で使用する場合、交差反応性を、結合アッセイ（例えば、ＳＰＲ、ＥＬＩＳＡ）における精製抗原との特異的反応性またはＤＥＣ－２０５を生理学的に発現する細胞への結合、そうでなければ機能的相互作用の検出によって測定する。交差反応性の決定方法は、例えば、Ｂｉａｃｏｒｅ（商標）２０００ＳＰＲ装置（Ｂｉａｃｏｒｅ ＡＢ，Ｕｐｐｓａｌａ，Ｓｗｅｄｅｎ）を使用したＢｉａｃｏｒｅ（商標）表面プラズモン共鳴（ＳＰＲ）分析による本明細書中に記載の標準的な結合アッセイまたは例えば、フローサイトメトリー技術による関連する種由来のＤＥＣ－２０５を発現する細胞（例えば、樹状細胞）への結合を含む。
【００６５】
本明細書中で使用する場合、「アイソタイプスイッチング」は、抗体のクラス（すなわち、アイソタイプ）があるＩｇクラスから他のＩｇクラスの１つに変化する現象をいう。
【００６６】
本明細書中で使用する場合、「非スイッチングアイソタイプ」は、アイソタイプスイッチングが起こらなかった場合に産生される重鎖のアイソタイプクラスをいう。非スイッチングアイソタイプをコードするＣＨ遺伝子は、典型的には、機能的に再配置されたＶＤＪ遺伝子からすぐ下流の第１のＣＨ遺伝子である。アイソタイプスイッチングは、古典的または非古典的アイソタイプスイッチングとして分類されている。古典的アイソタイプスイッチングは、導入遺伝子中の少なくとも１つのスイッチ配列領域を含む組換え事象によって起こる。非古典的アイソタイプスイッチングは、例えば、ヒトσ$_{\mu}$とヒトΣ$_{\mu}$との間の相同組換えによって起こり得る（δ関連欠失）。別の非古典的スイッチング機構（特に、導入遺伝子間および／または染色体間組換えなど）が起こり、アイソタイプスイッチングを実施することができる。
【００６７】
本明細書中で使用する場合、用語「スイッチ配列」は、スイッチ組換えを担うＤＮＡ配列をいう。「スイッチドナー」配列（典型的には、μスイッチ領域）は、スイッチ組換え中に欠失されるべき構築物領域の５’（すなわち、上流）であろう。「スイッチアクセプター」領域は、欠失されるべき構築領域と置換定常領域（例えば、γ、εなど）との間に存在するであろう。組換えが常に起こる特異的部位が存在しないので、最終遺伝子配列は、典型的には、構築物から予想不可能であろう。
【００６８】
本明細書中で使用する場合、「グリコシル化パターン」を、タンパク質、より詳細には免疫グロブリンタンパク質に共有結合する炭水化物単位のパターンと定義する。異種抗体のグリコシル化パターンが、導入遺伝子のＣＨ遺伝子が由来する種よりも非ヒトトランスジェニック動物の種におけるグリコシル化パターンに類似すると当業者に認識される場合、異種抗体のグリコシル化パターンを、非ヒトトランスジェニック動物種によって産生される抗体上で天然に起こるグリコシル化パターンに実質的に類似すると特徴づけることができる。
【００６９】
本明細書中で使用する場合、用語「天然に存在する」は、対象物に適用する場合、対象物を天然に見出すことができるという事実をいう。例えば、供給源から事実上単離することができ、実験でヒトによって意図的に改変しなかった生物（ウイルスが含まれる）中に存在するポリペプチド配列またはポリヌクレオチド配列は天然に存在する。
【００７０】

本明細書中で使用する場合、用語「再配置された」は、それぞれ完全なＶ$_H$ドメインまたはＶ$_L$ドメインを本質的にコードする高次構造中のＤ－ＪまたはＪセグメントに直接隣接してＶセグメントが配置される重鎖または軽鎖の免疫グロブリン遺伝子座の立体配置をいう。再配置された免疫グロブリン遺伝子の遺伝子座を、生殖系列ＤＮＡとの比較によって同定することができる。再配置された遺伝子座は、少なくとも１つの組換えヘプタマー／ノナマー相同性エレメントを有するであろう。

【００７１】

Ｖセグメントに関して本明細書中で使用する場合、用語「非再配列」または「生殖系列立体配置」は、ＤまたはＪセグメントに直接隣接するようにＶセグメントが組換えられていない立体配置をいう。

【００７２】

本明細書中で使用する場合、用語「核酸分子」は、ＤＮＡ分子およびＲＮＡ分子を含むことが意図される。核酸分子は、一本鎖または二本鎖であり得るが、好ましくは二本鎖ＤＮＡである。

【００７３】

ＤＥＣ－２０５に結合する抗体または抗体の一部（例えば、Ｖ$_H$、Ｖ$_L$、ＣＤＲ３）をコードする核酸に関して本明細書中で使用する場合、用語「単離核酸分子」は、抗体または抗体の一部をコードするヌクレオチド配列がＤＥＣ－２０５以外の抗原に結合する抗体または抗体の一部をコードする他のヌクレオチド配列を含まない核酸分子をいうとを意図し、この他の配列はヒトゲノムＤＮＡ中の核酸に天然に隣接し得る。例えば、配列番号２、３（シグナルペプチドを含む）／４（シグナルペプチドを含まない）、および配列番号８、９（シグナルペプチドを含む）／１０（シグナルペプチドを含まない）は、それぞれ、本発明のヒト抗ＤＥＣ－２０５抗体３Ｄ６－２Ｆ４の重鎖（Ｖ$_H$）および軽鎖（Ｖ$_L$）可変領域を含むヌクレオチド配列およびアミノ酸配列に対応する。特に、配列番号２および３／４は、それぞれ、３Ｄ６－２Ｆ４抗体のＶ$_H$のヌクレオチド配列およびアミノ酸配列に対応し、配列番号８および９／１０は、それぞれ、３Ｄ６－２Ｆ４抗体のＶ$_L$のヌクレオチド配列およびアミノ酸配列に対応する。

【００７４】

本発明はまた、配列番号２～９１に記載の配列の「保存的配列修飾物」（すなわち、ヌクレオチド配列によってコードされるかアミノ酸配列を含む抗体の抗原への結合を排除しないヌクレオチド配列およびアミノ酸配列修飾物）を含む。かかる保存的配列修飾物には、保存的ヌクレオチドおよびアミノ酸置換物ならびにヌクレオチドおよびアミノ酸付加物および欠失物が含まれる。例えば、修飾物を、当該技術で公知の標準的技術（部位特異的変異誘発およびＰＣＲ媒介変異誘発など）によって配列番号２～９１に導入することができる。保存的アミノ酸置換物には、アミノ酸残基を類似の側鎖を有するアミノ酸残基と置換する置換物が含まれる。類似の側鎖を有するアミノ酸残基ファミリーは、当該分野で定義されている。これらのファミリーには、塩基性側鎖を有するアミノ酸（例えば、リジン、アルギニン、ヒスチジン）、酸性側鎖を有するアミノ酸（例えば、アスパラギン酸、グルタミン酸）、無電荷極性側鎖を有するアミノ酸（例えば、グリシン、アスパラギン、グルタミン、セリン、トレオニン、チロシン、システイン、トリプトファン）、非極性側鎖を有するアミノ酸（例えば、アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、プロリン、フェニルアラニン、メチオニン）、β分岐側鎖を有するアミノ酸（例えば、トレオニン、バリン、イソロイシン）、および芳香族側鎖を有するアミノ酸（例えば、チロシン、フェニルアラニン、トリプトファン、ヒスチジン）が含まれる。したがって、ヒト抗ＤＥＣ－２０５抗体中の予想される非必須アミノ酸残基を、好ましくは、同一側鎖ファミリー由来の別のアミノ酸残基と置換する。抗原結合を排除しないヌクレオチドおよびアミノ酸の保存的置換物を同定する方法は当該分野で周知である（例えば、Ｂｒｕｍｍｅｌｌら，Ｂｉｏｃｈｅｍ．３２：１１８０－１１８７（１９９３）；Ｋｏｂａｙａｓｈｉら Ｐｒｏｔｅｉｎ Ｅｎｇ．１２（１０）：８７９－８８４（１９９９）；およびＢｕｒｋｓら Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ９４：４１２－４１７（１９９７）を参照

のこと）。
【００７５】
あるいは、別の実施形態では、飽和変異誘発などによって抗ＤＥＣ－２０５抗体コード配列の全てまたは一部に沿って変異を無作為に導入することができ、得られた修飾抗ＤＥＣ－２０５抗体を結合活性についてスクリーニングすることができる。
【００７６】
核酸について、用語「実質的相同性」は、適切にアラインメントして比較した場合に２つの核酸またはその指定配列が、適切なヌクレオチド挿入物または欠失物と少なくとも約８０％のヌクレオチド、通常少なくとも約９０％～９５％のヌクレオチド、より好ましくは少なくとも約９８％～９９．５％のヌクレオチドが同一であることを示す。あるいは、選択的ハイブリッド形成条件下でセグメントが鎖の相補物とハイブリッド形成する場合に実質的相同性を示す。
【００７７】
２配列間の同一率は、２つの配列の至適なアラインメントのために導入する必要があるギャップ数および各ギャップの長さを考慮して、配列が共有する同一の位置の数の関数（すなわち、相同率＝同一の位置の数／位置の総数×１００）である。配列の比較および２配列間の同一率の決定を、以下の非限定的な例に記載の数学アルゴリズムを使用して行うことができる。
【００７８】
２ヌクレオチド配列間の同一率を、ＮＷＳｇａｐｄｎａ．ＣＭＰ行列およびギャップウェイト４０、５０、６０、７０、または８０、およびレングスウェイト１、２、３、４、５、または６を使用したＧＣＧソフトウェアパッケージ（ｈｔｔｐ：／／ｗｗｗ．ｇｃｇ．ｃｏｍで利用可能）中のＧＡＰプログラムを使用して決定することができる。２つのヌクレオチド配列間またはアミノ酸配列間の同一率を、ＰＡＭ１２０ウェイト残基表、ギャップレングスペナルティ１２、およびギャップペナルティ４を使用した、ＡＬＩＧＮプログラム（バージョン２．０）に組み込まれたＥ．Ｍｅｙｅｒｓ ａｎｄ Ｗ．Ｍｉｌｌｅｒ（ＣＡＢＩＯＳ，４：１１－１７（１９８９））のアルゴリズムを使用して決定することもできる。さらに、アミノ２酸配列間の同一率を、Ｂｌｏｓｓｕｍ ６２行列またはＰＡＭ２５０行列のいずれか、およびギャップウェイト１６、１４、１２、１０、８、６、または４、およびレングスウェイト１、２、３、４、５、または６を使用した、ＧＣＧソフトウェアパッケージ（ｈｔｔｐ：／／ｗｗｗ．ｇｃｇ．ｃｏｍで利用可能）中のＧＡＰプログラムに組み込まれたＮｅｅｄｌｅｍａｎ ａｎｄ Ｗｕｎｓｃｈ（Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．（４８）：４４４－４５３（１９７０））アルゴリズムを使用して決定することができる。
【００７９】
本発明の核酸配列およびタンパク質配列を、例えば、関連配列を同定するための公共データベースで検索するための「クエリー配列」としてさらに使用することができる。かかる検索を、Ａｌｔｓｃｈｕｌ，ら（１９９０）Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．２１５：４０３－１０のＮＢＬＡＳＴおよびＸＢＬＡＳＴプログラム（バージョン２．０）を使用して行うことができる。ＢＬＡＳＴヌクレオチド検索を、ＮＢＬＡＳＴプログラム、スコア＝１００、ワードレングス＝１２を使用して行い、本発明の核酸分子に相同なヌクレオチド配列を得ることができる。ＢＬＡＳＴタンパク質検索を、ＸＢＬＡＳＴプログラム、スコア＝５０、ワードレングス＝３を使用して行い、本発明のタンパク質分子に相同なアミノ酸を得ることができる。比較のためのギャップアラインメントを得るために、Ａｌｔｓｃｈｕｌら，（１９９７）Ｎｕｃｌｅｉｃ Ａｃｉｄｓ Ｒｅｓ．２５（１７）：３３８９－３４０２に記載のようにＧａｐｐｅｄ ＢＬＡＳＴを使用することができる。ＢＬＡＳＴおよびＧａｐｐｅｄ ＢＬＡＳＴプログラムを使用する場合、各プログラム（例えば、ＸＢＬＡＳＴおよびＮＢＬＡＳＴ）のデフォルトパラメータを使用することができる。ｈｔｔｐ：／／ｗｗｗ．ｎｃｂｉ．ｎｌｍ．ｎｉｈ．ｇｏｖを参照のこと。
【００８０】

核酸は、ホールセル、細胞溶解物、または部分精製された形態もしくは実質的に純粋な形態中に存在し得る。標準的な技術（アルカリ／ＳＤＳ処理、ＣｓＣｌバンディング、カラムクロマトグラフィ、アガロースゲル電気泳動、および当該分野で周知の他の技術が含まれる）によって他の細胞成分または他の夾雑物（例えば、他の細胞核酸またはタンパク質）から精製された場合、核酸は、「単離される」か「実質的に純粋になる」。Ｆ．Ａｕｓｕｂｅｌ，ら，ｅｄ．Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ 分子生物学，Ｇｒｅｅｎｅ Ｐｕｂｌｉｓｈｉｎｇ ａｎｄ Ｗｉｌｅｙ Ｉｎｔｅｒｓｃｉｅｎｃｅ，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ（１９８７）を参照のこと。

【００８１】

未変性配列（修飾された制限部位などを除く）中であることが多いが、ｃＤＮＡ、ゲノム、またはその混合物のいずれか由来の本発明の核酸組成物を、遺伝子配列を得るための標準的な技術にしたがって変異させることができる。コード配列のために、必要に応じて、これらの変異はアミノ酸配列に影響を及ぼし得る。特に、未変性のＶ配列、Ｄ配列、Ｊ配列、定常配列、スイッチ配列、および本明細書中に記載の他のかかる配列と実質的に同一であるか、これらに由来するＤＮＡ配列を意図する（ここで、「由来する」は、ある配列が別の配列と同一であるか別の配列から修飾されていることを示す）。

【００８２】

核酸が別の核酸配列と機能的な関係におかれている場合、核酸は「作動可能に連結される」。例えば、プロモーターまたはエンハンサーは、これらが配列の転写に影響を及ぼす場合、コード配列に作動可能に連結される。転写調節配列に関して、「作動可能に連結された」は、連結されるＤＮＡ配列が連続しており、２つのタンパク質コード領域を結合する必要がある場合、連続し、且つ読み枠中に存在することを意味する。スイッチ配列について、「作動可能に連結された」は、配列がスイッチ組換えすることができることを示す。

【００８３】

本明細書中で使用する場合、用語「ベクター」は、連結されている別の核酸を輸送することができる核酸分子をいうことが意図される。１つのベクター型は「プラスミド」であり、これは、さらなるＤＮＡセグメントをライゲーションすることができる環状の二本鎖ＤＮＡループをいう。別のベクター型は、さらなるＤＮＡセグメントをウイルスゲノムにライゲーションすることができるウイルスベクターである。一定のベクターは、ベクターが導入される宿主細胞中で自律複製することができる（例えば、細菌複製起点を有する細菌ベクターおよび哺乳動物エピソームベクター）。他のベクター（例えば、哺乳動物非エピソームベクター）を宿主細胞への導入の際に宿主細胞のゲノムに組み込むことができ、それにより、宿主ゲノムと共に複製される。さらに、一定のベクターは、ベクターに作動可能に連結される遺伝子の発現を指示することができる。かかるベクターを、本明細書中で、「組換え発現ベクター」（または、簡潔に、「発現ベクター」）という。一般に、組換えＤＮＡ技術で有用な発現ベクターは、しばしば、プラスミドの形態である。プラスミドは最も一般的に使用されるベクターの形態であるので、本明細書中で、「プラスミド」および「ベクター」を交換可能に使用することができる。しかし、本発明は、等価な機能を果たすかかる他の発現ベクター形態（ウイルスベクター（例えば、複製欠損レトロウイルス、アデノウイルス、およびアデノ随伴ウイルス）など）が含まれることを意図する。

【００８４】

本明細書中で使用する場合、用語「組換え宿主細胞」（または、簡潔に、「宿主細胞」）は、組換え発現ベクターが導入された細胞をいうことが意図される。かかる用語が特定の対象細胞だけでなく、かかる細胞の子孫もいうことが意図され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って一定の修飾が後世で起こり得るので、かかる子孫は、実際、親細胞と同一でなくてよいが、本明細書中で使用される用語「宿主細胞」の範囲内に依然として含まれる。

【００８５】

用語「抗原提示細胞」または「ＡＰＣ」は、その表面上でＭＨＣと複合体形成した外来

抗原を示す細胞である。Ｔ細胞は、Ｔ細胞受容体（ＴＣＲ）を使用してこの複合体を認識する。ＡＰＣの例には、樹状細胞（ＤＣ）、末梢血単核球（ＰＢＭＣ）、単球（ＴＨＰ－１など）、Ｂリンパ芽球様細胞（Ｃ１Ｒ．Ａ２、１５１８Ｂ－ＬＣＬなど）、および単球由来樹状細胞（ＤＣ）が含まれるが、これらに限定されない。いくつかのＡＰＣは、食作用または受容体媒介エンドサイトーシスのいずれかによって抗原を内在化する。ＡＰＣ受容体の例には、Ｃ型レクチン（ヒト樹状細胞および上皮細胞２０５受容体（ＤＥＣ－２０５）など）およびヒトマクロファージマンノース受容体が含まれるが、これらに限定されない。

【００８６】

用語「抗原提示」は、ＡＰＣが抗原を捕捉し、例えば、ＭＨＣ－Ｉコンジュゲートおよび／またはＭＨＣ－ＩＩコンジュゲートの成分としてＴ細胞によって認識することができる過程をいう。

【００８７】

用語「免疫応答の誘導」および「免疫応答の増強」を交換可能に使用し、これらは、特定の抗原に対する免疫応答（すなわち、受動的応答または適応応答のいずれか）の刺激をいう。

【００８８】

本明細書中で使用する場合、用語「ｔｒｅａｔ」、「ｔｒｅａｔｉｎｇ」、および「ｔｒｅａｔｍｅｎｔ」は、本明細書中に記載の治療手段または予防手段をいう。「治療」方法は、障害または再発した障害を防止、治癒、遅延するか、その重症度を軽減するか、１つまたは複数の症状を改善するためか、かかる治療の非存在下で予想される生存を超えた被験体の生存を延長するためのかかる治療を必要とする被験体（例えば、特定の抗原に対する免疫応答の増強を必要とする被験体またはかかる障害を最終的に獲得し得る被験体）への本発明のヒト抗体の投与を使用する。

【００８９】

用語「有効用量」または「有効投薬量」を、所望の効果を達成するか少なくとも部分的に達成するのに十分な量と定義する。用語「治療有効用量」を、既に疾患を罹患している患者の疾患およびその合併症を治癒するか少なくとも部分的に停止させるのに十分な量と定義する。この使用に有効な量は、治療される障害の重症度および患者自身の免疫系の一般的状態に依存するであろう。

【００９０】

用語「患者」には、予防的処置または治療的処置のいずれかを受けるヒトおよび他の哺乳動物被験体が含まれる。

【００９１】

本明細書中で使用する場合、用語「被験体」には、任意のヒトまたは非ヒト動物が含まれる。例えば、本発明の方法および組成物を使用して、免疫障害を有する被験体を治療することができる。用語「非ヒト動物」には、全ての脊椎動物（例えば、哺乳動物および非哺乳動物（非ヒト霊長類、ヒツジ、イヌ、ウシ、ニワトリ、両生類、爬虫類など）が含まれる。

【００９２】

本発明の種々の態様を、以下の小節にさらに詳細に記載する。

【００９３】

Ｉ．ＤＥＣ－２０５に対する抗体の産生

本発明は、抗体（例えば、ＤＥＣ－２０５に結合する完全なヒト抗体（例えば、ヒトＤＥＣ－２０５））を含む。ＤＥＣ－２０５に結合する例示的なモノクローナル抗体には、３Ｄ６－２Ｆ４、３Ｄ６－４Ｃ８、３Ｇ９－２Ｄ２、５Ａ８－１Ｆ１、２Ｄ３－１Ｆ５－２Ａ９、３Ｃ７－３Ａ３、５Ｄ１２－５Ｇ１、１Ｇ６－１Ｇ６、５Ｃ３－２－３Ｆ６、１Ｅ６－３Ｄ１０、および３Ａ４－１Ｃ１０が含まれる。

【００９４】

本発明のモノクローナル抗体を、種々の公知の技術（Ｋｏｈｌｅｒ　ａｎｄ　Ｍｉｌｓ

ｔｅｉｎ，Ｎａｔｕｒｅ　２５６：４９５（１９７５）に記載の標準的な体細胞ハイブリッド形成技術など）を使用して産生することができる。体細胞ハイブリッド形成手順が好ましいが、原則として、他のモノクローナル抗体の産生技術（例えば、Ｂリンパ球のウイルスまたは発癌性の形質転換、ヒト抗体遺伝子のライブラリーを使用したファージディスプレイ技術）も使用することができる。

【００９５】

したがって、１つの実施形態では、ヒトＤＥＣ－２０５に結合する抗体の産生のためにハイブリドーマ法を使用する。この方法では、マウスまたは他の適切な宿主動物を適切な抗原で免疫化してリンパ球を誘発し、免疫化のために使用される抗原に特異的に結合する抗体を産生するか産生することができる。あるいは、リンパ球をｉｎ　ｖｉｔｒｏで免疫化することができる。次いで、リンパ球を、適切な融合剤（ポリエチレングリコールなど）を使用して骨髄腫細胞と融合して、ハイブリドーマ細胞を形成することができる（Ｇｏｄｉｎｇ，Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ　Ａｎｔｉｂｏｄｙ：Ｐｒｉｎｃｉｐｌｅｓ　ａｎｄ　Ｐｒａｃｔｉｃｅ，ｐｐ．５９－１０３（Ａｃａｄｅｍｉｃ　Ｐｒｅｓｓ，１９８６））。ハイブリドーマ細胞が成長している培養培地を、抗原に指向するモノクローナル抗体の産生についてアッセイする。所望の特異性、親和性、および／または活性の抗体を産生するハイブリドーマ細胞を同定した後、クローンを限界希釈手順によってサブクローニングし、標準的な方法によって成長させることができる（Ｇｏｄｉｎｇ，Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ　Ａｎｔｉｂｏｄｙ：Ｐｒｉｎｃｉｐｌｅｓ　ａｎｄ　Ｐｒａｃｔｉｃｅ，ｐｐ．５９－１０３（Ａｃａｄｅｍｉｃ　Ｐｒｅｓｓ，１９８６））。この手順に適切な培養培地には、例えば、Ｄ－ＭＥＭ培地またはＲＰＭＩ－１６４０培地が含まれる。さらに、ハイブリドーマ細胞を、動物中で腹水腫瘍としてｉｎ　ｖｉｖｏで成長させることができる。サブクローンによって分泌されたモノクローナル抗体を、従来の免疫グロブリン精製手順（例えば、プロテインＡ－Ｓｅｐｈａｒｏｓｅ、ヒドロキシルアパタイトクロマトグラフィ、ゲル電気泳動、透析、またはアフィニティクロマトグラフィなど）によって培養培地、腹水、または血清から分離することができる。

【００９６】

別の実施形態では、ヒトＤＥＣ－２０５に結合する抗体および抗体の一部を、例えば、ＭｃＣａｆｆｅｒｔｙら，Ｎａｔｕｒｅ，３４８：５５２－５５４（１９９０），Ｃｌａｃｋｓｏｎら，Ｎａｔｕｒｅ，３５２：６２４－６２８（１９９１），Ｍａｒｋｓら，Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．，２２２：５８１－５９７（１９９１）およびＨｏｅｔ　ｅｔ　ａｌ（２００５）Ｎａｔｕｒｅ　Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ　２３，３４４－３４８；Ｌａｄｎｅｒらの米国特許第５，２２３，４０９号；同第５，４０３，４８４号；および同第５，５７１，６９８号；Ｄｏｗｅｒらの米国特許第５，４２７，９０８号および同第５，５８０，７１７号；ＭｃＣａｆｆｅｒｔｙらの米国特許第５，９６９，１０８号および同第６，１７２，１９７号；ならびにＧｒｉｆｆｉｔｈｓらの米国特許第５，８８５，７９３号；同第６，５２１，４０４号；同第６，５４４，７３１号；同第６，５５５，３１３号；同第６，５８２，９１５号；および同第６，５９３，０８１号に記載の技術を使用して生成した抗体ファージライブラリーから単離することができる。さらに、鎖シャフリング（Ｍａｒｋｓら，Ｂｉｏ／Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ，１０：７７９－７８３（１９９２））ならびに非常に巨大なファージライブラリーの構築ストラテジーとしての組み合わせ感染およびｉｎ　ｖｉｖｏ組換え（Ｗａｔｅｒｈｏｕｓｅら，Ｎｕｃ．Ａｃｉｄｓ．Ｒｅｓ．，２１：２２６５－２２６６（１９９３））による高親和性（ｎＭ範囲）ヒト抗体の産生も使用することができる。

【００９７】

特定の実施形態では、ヒトＤＥＣ－２０５に結合する抗体を、Ｈｏｅｔら，前出に記載のファージディスプレイ技術を使用して産生する。この技術は、ヒトドナーから単離し、多様な合成重鎖ＣＤＲを有する免疫グロブリン配列の固有の組み合わせを有するヒトＦａｂライブラリーの生成を含む。次いで、ライブラリーを、ヒトＤＥＣ－２０５に結合するＦａｂについてスクリーニングする。

【００９８】
本発明の抗体を産生するハイブリドーマを生成するための好ましい動物系はマウス系である。マウスにおけるハイブリドーマ産生は当該分野で周知であり、免疫化プロトコールおよび免疫化脾細胞の単離および融合のための技術が含まれる。
【００９９】
１つの実施形態では、ＤＥＣ－２０５に指向する抗体を、マウス系よりもむしろヒト免疫系の一部を保有するトランスジェニックマウスまたは導入染色体マウスを使用して生成する。１つの実施形態では、本発明は、内因性μおよびκ鎖遺伝子座を不活化するターゲティングされた変異と共に非再配列ヒト重鎖（μおよびγ）およびκ軽鎖免疫グロブリン配列をコードするヒト免疫グロブリン遺伝子ミニ遺伝子座を含む、本明細書中で「ＨｕＭＡｂマウス」と呼ばれるトランスジェニックマウスを使用する（Ｌｏｎｂｅｒｇ，Ｎ．ら（１９９４）Ｎａｔｕｒｅ　３６８（６４７４）：８５６－８５９）。したがって、マウスは、マウスＩｇＭまたはκの発現が減少し、免疫化に応答して、導入されたヒト重鎖および軽鎖導入遺伝子がクラススイッチングおよび体細胞変異を受けて、高親和性ヒトＩｇＧκモノクローナル抗体を生成する（Ｌｏｎｂｅｒｇ，Ｎ．ら（１９９４），ｓｕｐｒａ；ｒｅｖｉｅｗｅｄ　ｉｎ　Ｌｏｎｂｅｒｇ，Ｎ．（１９９４）Ｈａｎｄｂｏｏｋ　ｏｆ　Ｅｘｐｅｒｉｍｅｎｔａｌ　Ｐｈａｒｍａｃｏｌｏｇｙ　１１３：４９－１０１；Ｌｏｎｂｅｒｇ，Ｎ．ａｎｄ　Ｈｕｓｚａｒ，Ｄ．（１９９５）Ｉｎｔｅｒｎ．Ｒｅｖ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．Ｖｏｌ．１３：６５－９３，およびＨａｒｄｉｎｇ，Ｆ．ａｎｄ　Ｌｏｎｂｅｒｇ，Ｎ．（１９９５）Ａｎｎ．Ｎ．Ｙ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ　７６４：５３６－５４６）。ＨｕＭＡｂマウスの調製は、以下のセクションＩＩおよびＴａｙｌｏｒ，Ｌ．ら（１９９２）Ｎｕｃｌｅｉｃ　Ａｃｉｄｓ　Ｒｅｓｅａｒｃｈ　２０：６２８７－６２９５；Ｃｈｅｎ，Ｊ．ら（１９９３）Ｉｎｔｅｒｎａｔｉｏｎａｌ　Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ　５：６４７－６５６；Ｔｕａｉｌｌｏｎら（１９９３）Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ　ＵＳＡ　９０：３７２０－３７２４；Ｃｈｏｉら（１９９３）Ｎａｔｕｒｅ　Ｇｅｎｅｔｉｃｓ　４：１１７－１２３；Ｃｈｅｎ，Ｊ．ら（１９９３）ＥＭＢＯ　Ｊ．１２：８２１－８３０；Ｔｕａｉｌｌｏｎら（１９９４）Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１５２：２９１２－２９２０；Ｌｏｎｂｅｒｇら，（１９９４）Ｎａｔｕｒｅ　３６８（６４７４）：８５６－８５９；Ｌｏｎｂｅｒｇ，Ｎ．（１９９４）Ｈａｎｄｂｏｏｋ　ｏｆ　Ｅｘｐｅｒｉｍｅｎｔａｌ　Ｐｈａｒｍａｃｏｌｏｇｙ　１１３：４９－１０１；Ｔａｙｌｏｒ，Ｌ．ら（１９９４）Ｉｎｔｅｒｎａｔｉｏｎａｌ　Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ　６：５７９－５９１；Ｌｏｎｂｅｒｇ，Ｎ．ａｎｄ　Ｈｕｓｚａｒ，Ｄ．（１９９５）Ｉｎｔｅｒｎ．Ｒｅｖ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．Ｖｏｌ．１３：６５－９３；Ｈａｒｄｉｎｇ，Ｆ．ａｎｄ　Ｌｏｎｂｅｒｇ，Ｎ．（１９９５）Ａｎｎ．Ｎ．Ｙ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ　７６４：５３６－５４６；Ｆｉｓｈｗｉｌｄ，Ｄ．ら（１９９６）Ｎａｔｕｒｅ　Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ　１４：８４５－８５１に詳述されている。さらに、米国特許第５，５４５，８０６号；同第５，５６９，８２５号；同第５，６２５，１２６号；同第５，６３３，４２５号；同第５，７８９，６５０号；同第５，８７７，３９７号；同第５，６６１，０１６号；同第５，８１４，３１８号；同第５，８７４，２９９号；および同第５，７７０，４２９号（全てＬｏｎｂｅｒｇ　ａｎｄ　Ｋａｙ，ａｎｄ　ＧｅｎＰｈａｒｍ　Ｉｎｔｅｒｎａｔｉｏｎａｌに付与）；Ｓｕｒａｎｉらの米国特許第５，５４５，８０７号；１９９８年６月１１日公開の国際公開特許ＷＯ９８／２４８８４号；１９９４年１１月１０日公開のＷＯ９４／２５５８５号；１９９３年６月２４日公開のＷＯ９３／１２２７号；１９９２年１２月２３日公開のＷＯ９２／２２６４５号；１９９２年３月１９日公開のＷＯ９２／０３９１８号を参照のこと。
【０１００】
免疫化
ＤＥＣ－２０５に対する完全なヒト抗体を生成するために、ヒト免疫グロブリン遺伝子を含むトランスジェニックマウスまたは導入染色体マウス（例えば、ＨＣｏ１２マウス、ＨＣｏ７マウス、またはＫＭマウス）を、例えば、Ｌｏｎｂｅｒｇら（１９９４）Ｎａｔ

ｕｒｅ ３６８（６４７４）：８５６－８５９；Ｆｉｓｈｗｉｌｄら（１９９６）Ｎａｔｕｒｅ Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ １４：８４５－８５１およびＷＯ９８／２４８８４号に記載のように、ＤＥＣ－２０５抗原の精製または富化調製物および／またはＤＥＣ－２０５を発現する細胞で免疫化することができる。本明細書中に記載のように、ＨｕＭＡｂマウスを、免疫原としての組換えＤＥＣ－２０５タンパク質またはＤＥＣ－２０５を発現する細胞株のいずれかで免疫化する。あるいは、マウスを、ヒトＤＥＣ－２０５をコードするＤＮＡで免疫化することができる。好ましくは、マウスは、最初の注入の際に６～１６週齢であろう。例えば、組換えＤＥＣ－２０５抗原の精製または富化調製物（５～５０μｇ）を使用して、ＨｕＭＡｂマウスを腹腔内で免疫化することができる。ＤＥＣ－２０５抗原の精製または富化調製物を使用した免疫化によって抗体が得られない事象では、マウスを、免疫応答を促進するためのＤＥＣ－２０５を発現する細胞（例えば、細胞株）で免疫化することもできる。例示的な細胞株には、ＤＥＣ－２０５を過剰発現する安定なＣＨＯ細胞株およびＲａｊｉ細胞株が含まれる。

【０１０１】

種々の抗原を使用した経験の蓄積により、フロイント完全アジュバントを含む抗原にて腹腔内（ＩＰ）または皮下（ＳＣ）での最初の免疫化およびその後のフロイント不完全アジュバントを含む抗原での隔週のＩＰ／ＳＣ免疫化（全部で１０回まで）の際にＨｕＭＡｂトランスジェニックマウスが最良に応答することが示された。免疫応答を、眼窩後出血によって得た血漿サンプルでの一連の免疫化プロトコールにわたってモニタリングすることができる。血漿をＥＬＩＳＡ（下記）によってスクリーニングすることができ、十分な力価の抗ＤＥＣ－２０５ヒト免疫グロブリンを有するマウスを融合に使用することができる。マウスを、屠殺して脾臓を取り出す３日前に抗原にて静脈内で追加免疫することができる。

【０１０２】

ＤＥＣ－２０５に対するモノクローナル抗体を産生するハイブリドーマの生成

ＤＥＣ－２０５に対するモノクローナル抗体を産生するハイブリドーマを生成するために、免疫化マウス由来の脾細胞およびリンパ節細胞を単離し、適切な不死化細胞株（マウス骨髄腫細胞株など）に融合することができる。次いで、得られたハイブリドーマを、抗原特異的抗体の産生についてスクリーニングすることができる。例えば、免疫化マウス由来の脾臓リンパ球の単一細胞懸濁物を、５０％ＰＥＧ（ｗ／ｖ）を使用してＳＰ２／０－Ａｇ８．６５３非分泌マウス骨髄腫細胞（ＡＴＣＣ，ＣＲＬ １５８０）に融合することができる。細胞を、およそ1×10^{5}で平底マイクロタイタープレート中にプレートし、その後に通常試薬である１０％胎児クローン血清、５～１０％ｏｒｉｇｅｎハイブリドーマクローニング因子（ＩＧＥＮ）、および１×ＨＡＴ（Ｓｉｇｍａ）を含む選択培地中で２週間インキュベートすることができる。およそ２週間後、細胞を、ＨＡＴがＨＴに置換された培地中で培養することができる。次いで、各細胞を、ヒト抗ＤＥＣ－２０５モノクローナルＩｇＭ抗体およびＩｇＧ抗体についてＥＬＩＳＡによってスクリーニングするか、ＤＥＣ－２０５を発現する細胞（例えば、ＤＥＣ－２０５を発現するＣＨＯ細胞株）の表面への結合についてＦＬＩＳＡ（蛍光結合免疫吸着アッセイ）によってスクリーニングすることができる。一旦大規模なハイブリドーマ成長が起こると、通常は１０～１４日後に培地を観察することができる。抗体分泌ハイブリドーマを再プレートし、再度スクリーニングし、依然としてＩｇＧについて陽性である場合、抗ＤＥＣ－２０５モノクローナル抗体を限界希釈によって少なくとも２回サブクローニングすることができる。次いで、安定なサブクローンをｉｎ ｖｉｔｒｏで培養して、特徴づけのために組織培養培地中で抗体を生成することができる。

【０１０３】

ＤＥＣ－２０５に対するモノクローナル抗体を産生するハイブリドーマの生成

本発明の抗体を、当該分野で周知のように、例えば、組換えＤＮＡ技術と遺伝子トランスフェクション法との組み合わせを使用して、宿主細胞トランスフェクトーマ中で産生することもできる（Ｍｏｒｒｉｓｏｎ，Ｓ．（１９８５）Ｓｃｉｅｎｃｅ ２２９：１２０

２）。

【０１０４】

例えば、１つの実施形態では、目的の遺伝子（例えば、ヒト抗体遺伝子）を、ＷＯ８７／０４４６２号、ＷＯ８９／０１０３６号、およびＥＰ３３８　８４１号に開示のＧＳ遺伝子発現系または当該分野で周知の他の発現系などによって使用される真核生物発現プラスミドなどの発現ベクターにライゲーションすることができる。クローン化抗体遺伝子を有する精製プラスミドを、真核生物宿主細胞（ＣＨＯ細胞もしくはＮＳＯ細胞または他の真核細胞様植物由来細胞、真菌細胞もしくは酵母細胞など）中に導入することができる。これらの遺伝子を導入するために使用される方法は、当該分野で説明された方法（エレクトロポレーション、リポフェクチン、またはリポフェクタミンなど）であり得る。宿主細胞中へのこれらの抗体遺伝子の導入後、抗体を発現する細胞を同定および選択することができる。これらの細胞はトランスフェクトーマに相当し、次いでこれらをその発現レベルを得るために増幅し、アップスケールして抗体を産生することができる。組換え抗体を、これらの培養物上清および／または細胞から単離および精製することができる。

【０１０５】

あるいは、これらのクローン化抗体遺伝子を、他の発現系（Ｅ．ｃｏｌｉまたは完全な生物など）で発現させるか、合成的に発現させることができる。

【０１０６】

インタクトな抗体を発現するための部分的抗体配列の使用

抗体は、主に６つの重鎖および軽鎖相補性決定領域（ＣＤＲ）中に存在するアミノ酸残基を介して標的抗原と相互作用する。このため、ＣＤＲ内のアミノ酸配列は、ＣＤＲの外側の配列よりも各抗体間で多様である。ＣＤＲ配列はほとんどの抗体－抗原相互作用を担うので、異なる性質を有する異なる抗体由来のフレームワーク配列上にグラフティングされた特異的な天然に存在する抗体由来のＣＤＲ配列を含む発現ベクターの構築により、特異的な天然に存在する抗体の性質を模倣する組換え抗体を発現することが可能である（例えば、Ｒｉｅｃｈｍａｎｎ，Ｌ．ら，１９９８，Ｎａｔｕｒｅ　３３２：３２３－３２７；Ｊｏｎｅｓ，Ｐ．ら，１９８６，Ｎａｔｕｒｅ　３２１：５２２－５２５；およびＱｕｅｅｎ，Ｃ．ら，１９８９，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｅｅ．Ｕ．Ｓ．Ａ．８６：１００２９－１００３３を参照のこと）。かかるフレームワーク配列を、生殖系列抗体遺伝子配列を含む公開ＤＮＡデータベースから得ることができる。これらの生殖系列配列は、成熟抗体遺伝子配列と異なるであろう。なぜなら、これらはＢ細胞成熟中のＶ（Ｄ）Ｊ連結によって形成される完全にアセンブリされた可変遺伝子を含まないからである。生殖系列遺伝子配列はまた、可変領域にわたって一様に個体で高親和性二次レパートリー抗体の配列と異なるであろう。例えば、体細胞変異は、フレームワーク領域のアミノ末端部分で相対的に稀である。例えば、体細胞変異は、フレームワーク領域１のアミノ末端部分およびフレームワーク領域４のカルボキシ末端部分で比較的稀である。さらに、多数の体細胞変異は、抗体の結合特性を有意に変化させない。このため、元の抗体と類似の結合特性を有するインタクトな組換え抗体を再作製するために特定の抗体の全ＤＮＡ配列を得る必要はない（１９９９年３月１２日出願のＰＣＴ／ＵＳ９９／０５５３５号を参照のこと）。ＣＤＲ領域に及ぶ部分的な重鎖および軽鎖配列は、典型的には、この目的に十分である。部分的配列を使用して、どの生殖系列の可変性および連結する遺伝子セグメントが組み換えられた抗体可変遺伝子に寄与していたかを決定する。次いで、生殖系列配列を使用して、可変領域の喪失部分を充填する。重鎖および軽鎖のリーダー配列をタンパク質成熟中に切断し、これらは最終抗体の性質に寄与しない。喪失配列を付加するために、クローン化ｃＤＮＡ配列をライゲーションまたはＰＣＲ増幅によって合成オリゴヌクレオチドと組み合わせることができる。あるいは、全可変領域を短い重複オリゴヌクレオチド組として合成し、ＰＣＲ増幅によって組み合わせて、完全に合成の可変領域クローンを作製することができる。この過程は、特定の制限部位の排除もしくは含有または特定のコドンの至適化などの一定の利点を有する。

【０１０７】

ハイブリドーマ由来の重鎖および軽鎖転写物のヌクレオチド配列を使用して、天然配列と同一のアミノ酸コード能を有する合成Ｖ配列を作製するための重複する合成オリゴヌクレオチド組をデザインする。合成重鎖およびκ鎖配列は、以下の３つの様式で天然配列と異なり得る：オリゴヌクレオチド合成およびＰＣＲ増幅を容易にするために一連の繰り返しヌクレオチド塩基が介在していること。Ｋｏｚａｋ規則にしたがって最適な翻訳開始部位が組み込まれていること（Ｋｏｚａｋ，１９９１，Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．２６６：１９８６７－１９８７０）、および翻訳開始部位の上流のＨｉｎｄＩＩＩ部位が操作されていること。

【０１０８】

重鎖および軽鎖可変領域の両方について、至適化されたコード鎖配列および対応する非コード鎖配列を、対応する非コードオリゴヌクレオチドのおよそ中点で３０～５０ヌクレオチドに分解する。したがって、各鎖について、オリゴヌクレオチドを、１５０～４００ヌクレオチドのセグメントに及ぶ重複二本鎖組にアセンブリすることができる。次いで、プールを、１５０～４００ヌクレオチドのＰＣＲ増幅産物を産生するためのテンプレートとして使用する。典型的には、１つの可変領域オリゴヌクレオチド組を２つのプールに分解し、これを個別に増幅させて２つの重複ＰＣＲ産物を生成するであろう。次いで、これらの重複産物をＰＣＲ増幅によって組み合わせて、完全な可変領域を形成する。また、発現ベクター構築物に容易にクローン化することができるフラグメントを生成するためにＰＣＲ増幅物中に重鎖または軽鎖定常領域の重複フラグメント（κ軽鎖のＢｂｓＩ部位またはγ重鎖の場合のＡｇｅＩ部位が含まれる）を含むことが望ましいかもしれない。

【０１０９】

次いで、再構築した重鎖および軽鎖可変領域を、クローン化プロモーター配列、リーダー配列、転写開始配列、リーダー配列、定常領域、３’非翻訳配列、ポリアデニル化配列、および転写終結配列、発現ベクター構築物を形成するための配列と組み合わせる。重鎖および軽鎖発現構築物を、単一ベクターと組み合わせ、宿主細胞に同時トランスフェクションするか、連続的にトランスフェクションするか、個別にトランスフェクションし、次いで融合して、両鎖を発現する宿主細胞を形成することができる。

【０１１０】

ＰＣＲ増幅されたＶ重鎖およびＶκ軽鎖のｃＤＮＡ配列を使用して完全な重鎖および軽鎖ミニ遺伝子を構築することができるように、発現ベクターの構築で用いるプラスミドを構築した。これらのプラスミドを使用して、完全なヒトＩｇＧ$_1$κまたはＩｇＧ$_4$κ抗体を発現することができる。本発明の完全なヒト抗体およびキメラ抗体には、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３、ＩｇＥ、ＩｇＡ、ＩｇＭ、およびＩｇＤ抗体も含まれる。類似のプラスミドを、他の重鎖アイソタイプの発現またはλ軽鎖を含む抗体の発現のために構築することができる。

【０１１１】

したがって、本発明の別の態様では、本発明の抗ＤＥＣ－２０５抗体の構造的特徴を使用して、本発明の抗体の少なくとも１つの機能的性質（例えば、表面プラズモン共鳴によって測定したところ親和定数が少なくとも$10^8 M^{-1}$でのヒトＤＥＣ－２０５への結合；ＤＥＣ－２０５を発現するヒト樹状細胞への結合後の内在化；ヒト樹状細胞中の抗原プロセシング区画への局在化；ＤＥＣ－２０５を発現するヒト樹状細胞の活性化；非ヒト霊長類樹状細胞または他の種の樹状細胞上でのＤＥＣ－２０５の交差反応；およびＭＨＣクラスＩおよびクラスＩＩ経路の両方によって媒介される抗原に対するヒトＴ細胞（ＣＴＬなど）応答（好ましくは、ＣＴＬ応答）の生成または増強など）を保持する構造的に関連する抗ＤＥＣ－２０５抗体を作製する。

【０１１２】

１つの実施形態では、本発明の抗体の１つまたは複数のＣＤＲ領域を、既知のフレームワーク領域およびＣＤＲと組換え的に組み合わせて、さらなる組換え的に操作された本発明の抗ＤＥＣ－２０５抗体を作製することができる。重鎖および軽鎖可変フレームワーク領域は、同一または異なる抗体配列に由来し得る。抗体配列は天然に存在する抗体の配列

であり得るか、いくつかの抗体のコンセンサス配列であり得る。Ｋｅｔｔｌｅｂｏｒｏｕｇｈら，Ｐｒｏｔｅｉｎ Ｅｎｇｉｎｅｅｒｉｎｇ ４：７７３（１９９１）；Ｋｏｌｂｉｎｇｅｒら，Ｐｒｏｔｅｉｎ Ｅｎｇｉｎｅｅｒｉｎｇ ６：９７１（１９９３）ａｎｄ Ｃａｒｔｅｒら，ＷＯ ９２／２２６５３を参照のこと。

【０１１３】

したがって、別の実施形態では、本発明は、（１）重鎖フレームワーク領域および重鎖ＣＤＲ（少なくとも１つの重鎖ＣＤＲが配列番号５、６、７、１７、１８、１９、２９、３０、３１、４１、４２、４３、５３、５４、５５、６５、６６、６７、７１、７２、７３、７７、７８、７９、８９、９０、または９１に示されるＣＤＲのアミノ酸配列から選択されるアミノ酸配列を含む）および（２）軽鎖フレームワーク領域および軽鎖ＣＤＲ（少なくとも１つの軽鎖ＣＤＲが配列番号１１、１２、１３、２３、２４、２５、３５、３６、３７、４７、４８、４９、５９、６０、６１、８３、８４、または８５に示されるＣＤＲのアミノ酸配列から選択されるアミノ酸配列を含む）を含み、ＤＥＣ－２０５に結合する能力を保持する抗体を調製する工程を含む、抗ＤＥＣ－２０５抗体の調製方法を提供する。抗体がＤＥＣ－２０５に結合する能力を、標準的な結合アッセイ（実施例に記載のアッセイ（例えば、ＥＬＩＳＡまたはＦＬＩＳＡ）など）を使用して決定することができる。

【０１１４】

抗体の重鎖および軽鎖ＣＤＲ３ドメインが抗原に対する抗体の結合特異性／親和性で特に重要な役割を果たすことが当該分野で周知である（Ｈａｌｌら，Ｊ．Ｉｍｕｎｏｌ．，１４９：１６０５－１６１２（１９９２）；Ｐｏｌｙｍｅｎｉｓら，Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．，１５２：５３１８－５３２９（１９９４）；Ｊａｈｎら，Ｉｍｍｕｎｏｂｉｏｌ．，１９３：４００－４１９（１９９５）；Ｋｌｉｍｋａら，Ｂｒｉｔ．Ｊ．Ｃａｎｃｅｒ，８３：２５２－２６０（２０００）；Ｂｅｉｂｏｅｒら，Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ，２９６：８３３－８４９（２０００）；Ｒａｄｅｒら，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ，９５：８９１０－８９１５（１９９８）；Ｂａｒｂａｓら，Ｊ．Ａｍ．Ｃｈｅｍ．Ｓｏｃ．，１１６：２１６１－２１６２（１９９４）；Ｄｉｔｚｅｌら，Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．，１５７：７３９－７４９（１９９６）を参照のこと）。したがって、上記のように調製された本発明の組換え抗体は、好ましくは、抗体３Ｄ６－２Ｆ４、３Ｄ６－４Ｃ８、３Ｇ９－２Ｄ２、５Ａ８－１Ｆ１、２Ｄ３－１Ｆ５－２Ａ９、３Ｃ７－３Ａ３、５Ｄ１２－５Ｇ１、１Ｇ６－１Ｇ６、および３Ａ４－１Ｃ１０の重鎖および／または軽鎖ＣＤＲ３を含む。抗体は、さらに、抗体３Ｄ６－２Ｆ４、３Ｄ６－４Ｃ８、３Ｇ９－２Ｄ２、５Ａ８－１Ｆ１、２Ｄ３－１Ｆ５－２Ａ９、３Ｃ７－３Ａ３、５Ｄ１２－５Ｇ１、１Ｇ６－１Ｇ６、および３Ａ４－１Ｃ１０のＣＤＲ２を含むことができる。抗体は、さらに、抗体３Ｄ６－２Ｆ４、３Ｄ６－４Ｃ８、３Ｇ９－２Ｄ２、５Ａ８－１Ｆ１、２Ｄ３－１Ｆ５－２Ａ９、３Ｃ７－３Ａ３、５Ｄ１２－５Ｇ１、１Ｇ６－１Ｇ６、および３Ａ４－１Ｃ１０のＣＤＲ１を含むことができる。抗体は、さらに、ＣＤＲの任意の組み合わせを含むことができる。

【０１１５】

したがって、別の実施形態では、本発明は、さらに、（１）重鎖フレームワーク領域、重鎖ＣＤＲ１領域、重鎖ＣＤＲ２領域、および重鎖ＣＤＲ３領域（ここで、重鎖ＣＤＲ３領域は、３Ｄ６－２Ｆ４、３Ｄ６－４Ｃ８、３Ｇ９－２Ｄ２、５Ａ８－１Ｆ１、２Ｄ３－１Ｆ５－２Ａ９、３Ｃ７－３Ａ３、５Ｄ１２－５Ｇ１、１Ｇ６－１Ｇ６、および３Ａ４－１Ｃ１０のＣＤＲ３から選択される（例えば、配列番号７に示す３Ｄ６－２Ｆ４の重鎖ＣＤＲ３領域））および（２）軽鎖フレームワーク領域、軽鎖ＣＤＲ１領域、軽鎖ＣＤＲ２領域、および軽鎖ＣＤＲ３領域（ここで、軽鎖ＣＤＲ３領域は、３Ｄ６－２Ｆ４、３Ｄ６－４Ｃ８、３Ｇ９－２Ｄ２、５Ａ８－１Ｆ１、２Ｄ３－１Ｆ５－２Ａ９、３Ｃ７－３Ａ３、５Ｄ１２－５Ｇ１、１Ｇ６－１Ｇ６、および３Ａ４－１Ｃ１０のＣＤＲ３から選択される（例えば、配列番号１３に示す３Ｄ６－２Ｆ４の軽鎖ＣＤＲ３領域））を含み、ＤＥＣ－２０５に結合する抗ＤＥＣ－２０５抗体を提供する。抗体は、さらに、抗体３Ｄ６－２

Ｆ４、３Ｄ６－４Ｃ８、３Ｇ９－２Ｄ２、５Ａ８－１Ｆ１、２Ｄ３－１Ｆ５－２Ａ９、３Ｃ７－３Ａ３、５Ｄ１２－５Ｇ１、１Ｇ６－１Ｇ６、および３Ａ４－１Ｃ１０の重鎖ＣＤＲ２および／または軽鎖ＣＤＲ２を含むことができる。抗体は、さらに、３Ｄ６－２Ｆ４、３Ｄ６－４Ｃ８、３Ｇ９－２Ｄ２、５Ａ８－１Ｆ１、２Ｄ３－１Ｆ５－２Ａ９、３Ｃ７－３Ａ３、５Ｄ１２－５Ｇ１、１Ｇ６－１Ｇ６、および３Ａ４－１Ｃ１０の重鎖ＣＤＲ１および／または軽鎖ＣＤＲ１を含むことができる。

【０１１６】

修飾配列を有する抗体の生成

別の実施形態では、本発明の抗ＤＥＣ－２０５抗体の可変領域配列またはその一部を修飾して、結合（すなわち、未修飾抗体と同一のエピトープへの）を保持し、それにより、機能的に等価である構造的に関連する抗ＤＥＣ－２０５抗体を作製する。抗原結合を除去することなく変化させることができる残基の同定方法は当該分野で周知である（例えば、Ｍａｒｋｓら（Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ（１９９２）１０（７）：７７９－８３（ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ ｄｉｖｅｒｓｉｆｉｃａｔｉｏｎ ｂｙ ｓｈｕｆｆｌｉｎｇ ｌｉｇｈｔ ｃｈａｉｎ ｖａｒｉａｂｌｅ ｒｅｇｉｏｎｓ，ｔｈｅｎ ｈｅａｖｙ ｃｈａｉｎ ｖａｒｉａｂｌｅ ｒｅｇｉｏｎｓ ｗｉｔｈ ｆｉｘｅｄ ＣＤＲ３ ｓｅｑｕｅｎｃｅ ｃｈａｎｇｅｓ），Ｊｅｓｐｅｒｓら（１９９４）Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ １２（９）：８９９－９０３（ｓｅｌｅｃｔｉｏｎ ｏｆ ｈｕｍａｎ ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ ｆｒｏｍ ｐｈａｇｅ ｄｉｓｐｌａｙ ｒｅｐｅｒｔｏｉｒｅｓ ｔｏ ａ ｓｉｎｇｌｅ ｅｐｉｔｏｐｅ ｏｆ ａｎ ａｎｔｉｇｅｎ），Ｓｈａｒｏｎら（１９８６）ＰＮＡＳ ＵＳＡ ８３（８）：２６２８－３１（ｓｉｔｅ－ｄｉｒｅｃｔｅｄ ｍｕｔａｇｅｎｅｓｉｓ ｏｆ ａｎ ｉｎｖａｒｉａｎｔ ａｍｉｎｏ ａｃｉｄ ｒｅｓｉｄｕｅ ａｔ ｔｈｅ ｖａｒｉａｂｌｅ－ｄｉｖｅｒｓｉｔｙ ｓｅｇｍｅｎｔｓ ｊｕｎｃｔｉｏｎ ｏｆ ａｎ ａｎｔｉｂｏｄｙ）；Ｃａｓｓｏｎら（１９９５）Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１５５（１２）：５６４７－５４（ｅｖｏｌｕｔｉｏｎ ｏｆ ｌｏｓｓ ａｎｄ ｃｈａｎｇｅ ｏｆ ｓｐｅｃｉｆｉｃｉｔｙ ｒｅｓｕｌｔｉｎｇ ｆｒｏｍ ｒａｎｄｏｍ ｍｕｔａｇｅｎｅｓｉｓ ｏｆ ａｎ ａｎｔｉｂｏｄｙ ｈｅａｖｙ ｃｈａｉｎ ｖａｒｉａｂｌｅ ｒｅｇｉｏｎｓ）を参照のこと）。

【０１１７】

したがって、本発明の１つの態様では、上記の操作された抗体のＣＤＲ１、２、および／または３領域は、本明細書中に開示の抗体３Ｄ６－２Ｆ４、３Ｄ６－４Ｃ８、３Ｇ９－２Ｄ２、５Ａ８－１Ｆ１、２Ｄ３－１Ｆ５－２Ａ９、３Ｃ７－３Ａ３、５Ｄ１２－５Ｇ１、１Ｇ６－１Ｇ６、および３Ａ４－１Ｃ１０のアミノ酸配列として正確なアミノ酸配列を含むことができる。しかし、本発明の他の態様では、抗体は、依然として効率的にＤＥＣ－２０５に結合する能力を保持する、３Ｄ６－２Ｆ４、３Ｄ６－４Ｃ８、３Ｇ９－２Ｄ２、５Ａ８－１Ｆ１、２Ｄ３－１Ｆ５－２Ａ９、３Ｃ７－３Ａ３、５Ｄ１２－５Ｇ１、１Ｇ６－１Ｇ６、および３Ａ４－１Ｃ１０の正確なＣＤＲ配列由来の誘導体を含む。かかる配列修飾物には、１つまたは複数のアミノ酸の付加物、欠失物、または置換物（例えば、上記の保存的配列修飾物）が含まれ得る。配列修飾物は、抗体３Ｄ６－２Ｆ４、３Ｄ６－４Ｃ８、３Ｇ９－２Ｄ２、５Ａ８－１Ｆ１、２Ｄ３－１Ｆ５－２Ａ９、３Ｃ７－３Ａ３、５Ｄ１２－５Ｇ１、１Ｇ６－１Ｇ６、および３Ａ４－１Ｃ１０の特定のＣＤＲ１、ＣＤＲ２、およびＣＤＲ３配列についての上記のコンセンサス配列にも基づき得る。

【０１１８】

したがって、別の実施形態では、操作された抗体は、例えば、抗体３Ｄ６－２Ｆ４、３Ｄ６－４Ｃ８、３Ｇ９－２Ｄ２、５Ａ８－１Ｆ１、２Ｄ３－１Ｆ５－２Ａ９、３Ｃ７－３Ａ３、５Ｄ１２－５Ｇ１、１Ｇ６－１Ｇ６、および３Ａ４－１Ｃ１０の１つまたは複数のＣＤＲと９０％、９５％、９８％、または９９．５％同一である１つまたは複数のＣＤＲから構成され得る。中間から上記で引用した値までの範囲（例えば、１つまたは複数の上記配列に対して９０～９５％、９５～９８％、または９８～１００％同一のＣＤＲ）も、

本発明に含まれることが意図される。

【０１１９】

別の実施形態では、ＣＤＲの１つまたは複数の残基を、理想的な結合定数が達成されるようにより好ましいオン結合速度、より好ましいオフ結合速度、またはその両方を達成するために結合が修飾されるように変化させることができる。このストラテジーを使用して、超高結合親和性（例えば、$10^{10}M^{-1}$以上）を有する抗体を得ることができる。当該分野で周知の親和性成熟技術および本明細書中に記載親和性成熟技術を使用して、ＣＤＲ領域を変化させ、その後に得られた結合分子を所望の結合の変化についてスクリーニングすることができる。したがって、ＣＤＲが変化するにつれて、結合と低免疫原性とが最良に組み合わされるように抗体が至適化されるように結合親和性および免疫原性の変化をモニタリングし、スコアリングすることができる。

【０１２０】

ＣＤＲ内の修飾物に加えてまたはその代わりに、これらの修飾物が抗体の結合親和性を排除しない限り、抗体の重鎖および／または軽鎖可変領域の１つまたは複数のフレームワーク領域ＦＲ１、ＦＲ２、ＦＲ３、およびＦＲ４内を修飾することもできる。例えば、本発明の抗体の重鎖および／または軽鎖可変領域のフレームワーク領域中の１つまたは複数の非生殖系列アミノ酸残基を、生殖系列アミノ酸残基（すなわち、抗体が有意な配列同一性を有する重鎖または軽鎖可変領域のヒト生殖系列配列中の対応するアミノ酸残基）と置換する。例えば、抗体鎖を有意な配列同一性を共有する生殖系列抗体鎖とアラインメントすることができ、抗体フレームワーク配列と生殖系列鎖フレームワークとの間で適合しないアミノ酸残基を、生殖系列配列由来の対応する残基と置換することができる。抗体可変フレームワーク領域と等価なヒト生殖系列配列可変フレームワーク領域との間でアミノ酸が異なる場合、アミノ酸が以下のカテゴリーのうちの１つに含まれると妥当に予想される場合に、抗体フレームワークアミノ酸を通常は等価なヒト生殖系列配列アミノ酸と置換すべきである。

（１）抗原に直接非共有結合するアミノ酸残基、
（２）ＣＤＲ領域に隣接するアミノ酸残基、
（３）他の方法でＣＤＲ領域（例えば、コンピュータモデリングによって決定したところＣＤＲ領域の約３～６Å以内）と相互作用するアミノ酸残基、または
（４）ＶＬ－ＶＨ界面に関与するアミノ酸残基。

【０１２１】

「抗原に直接非共有結合する」残基には、例えば、水素結合、ファンデルワールス力、および疎水性相互作用などによって確立された化学力にしたがって抗原上のアミノ酸と直接相互作用する可能性が高いフレームワーク領域中の位置のアミノ酸が含まれる。したがって、１つの実施形態では、本発明の抗体のフレームワーク領域中のアミノ酸残基を、抗原に直接非共有結合する対応する生殖系列アミノ酸残基と置換する。

【０１２２】

「ＣＤＲ領域に隣接する」残基には、抗体の一次配列中の１つまたは複数のＣＤＲに直接隣接する位置（例えば、Ｋａｂａｔによって定義されたＣＤＲまたはＣｈｏｔｈｉａによって定義されたＣＤＲに直接隣接する位置）（例えば、Ｃｈｏｔｈｉａ ａｎｄ Ｌｅｓｋ Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．１９６：９０１（１９８７）を参照のこと）のアミノ酸残基が含まれる。したがって、１つの実施形態では、本発明の抗体のフレームワーク領域内のアミノ酸残基を、ＣＤＲ領域に隣接する対応する生殖系列アミノ酸残基と置換する。

【０１２３】

「他の方法でＣＤＲ領域と相互作用する」残基には、二次構造分析によってＣＤＲ領域に影響を及ぼすのに十分な空間的配置にあると決定された残基が含まれる。かかるアミノ酸は、一般に、ＣＤＲ中のいくつかの原子の約３オングストローム単位（Å）内の側鎖原子を有し、確立された化学力（上記列挙の化学力など）に従ってＣＤＲ原子と相互作用することができる原子を含まなければならない。したがって、１つの実施形態では、本発明の抗体のフレームワーク領域内のアミノ酸残基を、他の方法でＣＤＲ領域と相互作用する

対応する生殖系列アミノ酸残基と置換する。

【０１２４】

フレームワーク中のいくつかの位置のアミノ酸は、多数の抗体中のＣＤＲ高次構造（例えば、ＣＤＲと相互作用することができる）の決定に重要であることが公知である（Ｃｈｏｔｈｉａ ａｎｄ Ｌｅｓｋ，ｓｕｐｒａ，Ｃｈｏｔｈｉａら，ｓｕｐｒａ ａｎｄ Ｔｒａｍｏｎｔａｎｏら，Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．２１５：１７５（１９９０）（その全てが本明細書中で参考として援用される））。これらの著者は、いくつかの公知の抗体の構造の分析によるＣＤＲ高次構造に重要な保存されたフレームワーク残基を同定した。分析された抗体を、限定数のＣＤＲの高次構造に基づいて構造的または「カノニカル（ｃａｎｏｎｉｃａｌ）」クラスに分類した。カノニカルクラスのメンバー内の保存されたフレームワーク残基を、「カノニカル」残基という。カノニカル残基には、軽鎖の残基２、２５、２９、３０、３３、４８、６４、７１、９０、９４、および９５ならびに重鎖の残基２４、２６、２９、３４、５４、５５、７１、および９４が含まれる。さらなる残基（例えば、ＣＤＲ構造決定残基）を、Ｍａｒｔｉｎ ａｎｄ Ｔｈｏｒｔｏｎ（１９９６）Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．２６３：８００の方法論にしたがって同定することができる。特に、軽鎖の２位、４８位、６４位、および７１位ならびに重鎖の２６～３０位、７１位、および９４位のアミノ酸（Ｋａｂａｔにしたがってナンバリング）は、多数の抗体中のＣＤＲと相互作用することができることが公知である。軽鎖の３５位および重鎖の９３位および１０３位のアミノ酸はまた、ＣＤＲと相互作用する可能性が高い。ＣＤＲの高次構造に影響を及ぼし得るさらなる残基を、Ｆｏｏｔｅ ａｎｄ Ｗｉｎｔｅｒ（１９９２）Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．２２４：４８７の方法論にしたがって同定することができる。かかる残基を、「バーニア」残基といい、ＣＤＲに密接に関連する（すなわち、ＣＤＲ下で「プラットフォーム」を形成する）フレームワーク領域中の残基である。

【０１２５】

「ＶＬ－ＶＨ界面に関与する」残基または「パッキング残基」には、例えば、Ｎｏｖｏｔｎｙ ａｎｄ Ｈａｂｅｒ，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ，８２：４５９２－６６（１９８５）またはＣｈｏｔｈｉａら，前出によって定義されたＶＬとＶＨとの間の界面の残基が含まれる。

【０１２６】

時折、特定のアミノ酸が１つまたは複数の上記カテゴリーに分類されるかどうかについていくらか不正確である。かかる場合、別の変異抗体を産生する。この変異抗体の一方は特定の置換を有し、他方は持たない。このようにして産生された別の変異抗体を、本明細書中に記載のいずれかのアッセイで所望の活性について試験し、好ましい抗体を選択することができる。

【０１２７】

フレームワーク領域内置換のさらなる候補は、抗体についてその位置で通常でないか「稀な」アミノ酸である。これらのアミノ酸を、ヒト生殖系列配列の等価な位置またはより典型的な抗体の等価な位置由来のアミノ酸と置換することができる。例えば、抗体のフレームワーク領域中のアミノ酸がその位置について稀であり、生殖系列配列中の対応するアミノ酸が免疫グロブリン配列中のその位置について一般的である場合、または、抗体中のアミノ酸がその位置について稀であり、生殖系列配列中の対応するアミノ酸も他の配列と比較してまれである場合、置換が望ましいかもしれない。期せずして抗体に典型的である生殖系列配列由来のアミノ酸との通常でないアミノ酸の置換により、抗体の免疫原性を低くすることができることが意図される。

【０１２８】

本明細書中で使用する場合、用語「稀な」は、代表的な配列サンプル中の配列の約２０％未満、好ましくは約１０％未満、より好ましくは約５％未満、さらにより好ましくは約３％未満、さらにより好ましくは約２％未満、さらにより好ましくは約１％未満でその位置に生じるアミノ酸を示し、本明細書中で使用する場合、用語「一般的な」は、代表的サンプル中の配列で約２５％を超えるが、通常は約５０％を超えて生じるアミノ酸を示す。

例えば、全ての軽鎖および重鎖可変領域配列は、それぞれ、相互に特異的に相同であり、一定の重大な位置で同一のアミノ酸を有する配列の「下位集団」に分類される（Ｋａｂａｔら，前出）。抗体配列中のアミノ酸が配列間で「稀」または「一般的」であるかどうかを決定する場合、抗体配列と同一の下位集団中の配列のみを考慮することがしばしば好ましいであろう。

【０１２９】

一般に、抗体のフレームワーク領域は、これらが由来するヒト生殖系列配列のフレームワーク領域と通常は実質的に同一であり、より通常には同一である。勿論、フレームワーク領域中の多数のアミノ酸は、抗体の特異性または親和性にほとんどまたは全く直接寄与しない。したがって、フレームワーク残基の多数の各保存的置換を、得られた免疫グロブリンの特異性または親和性を非常に変化させることなく寛容することができる。したがって、１つの実施形態では、抗体の可変フレームワーク領域は、ヒト生殖系列可変フレームワーク領域配列またはかかる配列のコンセンサスと少なくとも８５％の配列が同一である。別の実施形態では、抗体の可変フレームワーク領域は、ヒト生殖系列可変フレームワーク領域配列またはかかる配列のコンセンサスと少なくとも９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％の配列が同一である。

【０１３０】

簡潔に結合するＤＥＣ－２０５に加えて、例えば、以下：

（ａ）表面プラズモン共鳴によって測定した場合に少なくとも$10^{8}M^{-1}$の親和定数でヒトＤＥＣ－２０５に結合すること；

（ｂ）ＤＥＣ－２０５を発現するヒト樹状細胞への結合後の内在化；

（ｃ）樹状細胞中の抗原プロセシング区画への局在化；

（ｄ）ＤＥＣ－２０５を発現するヒト樹状細胞の活性化；

（ｅ）非ヒト霊長類樹状細胞または他の種の樹状細胞上のＤＥＣ－２０５との交差反応；

（ｆ）ＭＨＣクラスＩおよびクラスＩＩ経路の両方によって媒介されるヒトＴ細胞応答（好ましくは、Ｔ細胞応答）の生成または増強；

（ｇ）ヒトＣＤ４＋、ＣＤ８＋、またはＮＫＴ細胞応答の生成または増強；および

（ｈ）末梢$CD8^{+}$Ｔ細胞寛容を誘導すること

などの本発明の抗体の他の機能的性質のその保持について抗体を選択することができる。

【０１３１】

ＤＥＣ－２０５に対するモノクローナル抗体の特徴づけ

本発明のモノクローナル抗体を、種々の公知の技術を使用してＤＥＣ－２０５への結合について特徴づけることができる。一般に、抗体を最初にＥＬＩＳＡによって特徴づける。簡潔に述べれば、マイクロタイタープレートを精製ＤＥＣ－２０５を含むＰＢＳでコーティングし、次いで、ＰＢＳで希釈したウシ血清アルブミン（ＢＳＡ）などの無関係のタンパク質でブロッキングすることができる。ＤＥＣ－２０５免疫化マウス由来の血漿の希釈物を各ウェルに添加し、３７℃で１～２時間インキュベートする。プレートをＰＢＳ／Ｔｗｅｅｎ２０で洗浄し、次いで、アルカリホスファターゼに抱合したヤギ抗ヒトＩｇＧＦｃ特異的ポリクローナル試薬と３７℃で１時間インキュベートする。洗浄後、プレートをＡＢＴＳ基質で発色させ、ＯＤ４０５で分析する。好ましくは、もっとも高い力価を生じるマウスを融合に使用するであろう。

【０１３２】

上記のＥＬＩＳＡアッセイを使用して、抗体についてスクリーニングし、したがって、ＤＥＣ－２０５免疫原と正の反応性を示す抗体を産生するハイブリドーマをスクリーニングすることができる。次いで、好ましくは高親和性でＤＥＣ－２０５に結合するハイブリドーマをサブクローニングし、さらに特徴づけることができる。次いで、親細胞の反応性をを保持する各ハイブリドーマ由来の１つのクローン（ＥＬＩＳＡによる）を、細胞バンクの作製および抗体精製のために選択することができる。

【０１３３】

抗ＤＥＣ－２０５抗体を精製するために、選択したハイブリドーマを、回転ビン、２リ

ットルのスピナーフラスコ、または他の培養系で成長させることができる。上清を濾過し、濃縮した後、プロテインＡ－セファロース（Ｐｈａｒｍａｃｉａ，Ｐｉｓｃａｔａｗａｙ，ＮＪ）を使用してアフィニティクロマトグラフィを行ってタンパク質を精製することができる。ＰＢＳへの緩衝液交換後、濃度を、吸光係数１．４３を使用したＯＤ$_{280}$または好ましくは比濁分析によって決定することができる。ＩｇＧを、ゲル電気泳動および抗原特異的方法によってチェックすることができる。

【０１３４】

選択された抗ＤＥＣ－２０５モノクローナル抗体が固有のエピトープに結合するかどうかを決定するために、各抗体を、市販の試薬（Ｐｉｅｒｃｅ，Ｒｏｃｋｆｏｒｄ，ＩＬ）を使用してビオチン化することができる。ビオチン化ＭＡｂ結合を、ストレプトアビジン標識プローブで検出することができる。精製抗体のアイソタイプを決定するために、当該分野で認識された技術を使用してアイソタイプＥＬＩＳＡを行うことができる。例えば、マイクロタイタープレートのウェルを、１０μｇ／ｍｌの抗Ｉｇにて４℃で一晩コーティングすることができる。５％ＢＳＡでのブロッキング後、プレートを１０μｇ／ｍｌのモノクローナル抗体または精製アイソタイプコントロールと周囲温度で２時間反応させる。次いで、ウェルをＩｇＧｌまたは他のアイソタイプ特異的抱合プローブのいずれかと反応させることができる。上記のようにプレートを発色させ、分析する。

【０１３５】

ＤＥＣ－２０５を発現する生細胞へのモノクローナル抗体の結合を試験するために、フローサイトメトリーを使用することができる。簡潔に述べれば、膜結合ＤＥＣ－２０５を発現する細胞株および／またはヒトＰＢＭＣ（標準的な培養条件下で成長）を、種々の濃度のモノクローナル抗体を含む０．１％ＢＳＡおよび０．０１％ＮａＮ３を含むＰＢＳと４℃で１時間混合する。洗浄後、細胞を、一次抗体染色と同一の条件下でフルオレセイン標識抗ＩｇＧ抗体と反応させる。サンプルを、１細胞をゲーティングさせる側方散乱性を使用したＦＡＣＳｃａｎ装置によって分析し、標識抗体の結合を決定することができる。蛍光顕微鏡法を使用した別のアッセイを、フローサイトメトリーアッセイ（に加えてまたはその代わりに）使用することができる。細胞を上記のように正確に染色し、蛍光顕微鏡法によって試験することができる。この方法により、各細胞が視覚化可能であるが、抗原の密度に依存して感度が低下し得る。

【０１３６】

抗ＤＥＣ－２０５　ＩｇＧを、ウェスタンブロッティングによってＤＥＣ－２０５抗原との反応性についてさらに試験することができる。簡潔に述べれば、ＤＥＣ－２０５を発現する細胞由来の細胞抽出物を調製し、ドデシル硫酸ナトリウムポリアクリルアミドゲル電気泳動に供することができる。電気泳動後、分離した抗原を、ニトロセルロース膜に移し、２０％マウス血清でブロッキングし、試験すべきモノクローナル抗体で探索する。ＩｇＧ結合を、抗ＩｇＧアルカリホスファターゼを使用して検出し、ＢＣＩＰ／ＮＢＴ基質タブレット（Ｓｉｇｍａ　Ｃｈｅｍ．Ｃｏ．，Ｓｔ．Ｌｏｕｉｓ，ＭＯ）を使用して発色させることができる。

【０１３７】

種々の抗ＤＥＣ－２０５抗体の結合親和性、交差反応性、および結合反応速度の分析方法には、当該分野で公知の標準的なアッセイ（例えば、本明細書中の実施例２に記載のＢｉａｃｏｒｅ（商標）２０００ＳＰＲ装置（Ｂｉａｃｏｒｅ　ＡＢ，Ｕｐｐｓａｌａ，Ｓｗｅｄｅｎ）を使用したＢｉａｃｏｒｅ（商標）表面プラズモン共鳴（ＳＰＲ）分析）が含まれる。

【０１３８】

ＩＩ．分子コンジュゲート／免疫毒素

本発明は、ＡＰＣ上の受容体に結合する抗体（例えば、ＤＥＣ－２０５に結合する抗体）に連結した抗原（腫瘍抗原またはウイルス抗原など）を含む種々の治療分子コンジュゲート（例えば、ワクチンコンジュゲート）を提供する。これにより、ＡＰＣ（ＤＥＣ－２０５を発現する細胞など（例えば、樹状細胞およびＢ細胞））に抗原をターゲティングし

て、抗原に対するプロセシング、提示、および最終的な免疫応答（例えば、ＣＴＬ応答）を増強することができる。かかるコンジュゲートの略図を図８に示す。示した例では、抗原を、実質的に完全な抗ＤＥＣ－２０５抗体の各重鎖のＣＨ３ドメインに遺伝的に融合する。しかし、以下でさらに考察されるように、抗原をかかる抗体またはそのフラグメントの他の部分に代替的に連結することができ、抱合（化学的抱合など）の他の形態も使用することができることが認識されるであろう。

【０１３９】

本発明での使用に適切な抗原には、例えば、予防的または治療的免疫応答が望ましい感染症抗原および腫瘍抗原（例えば、腫瘍細胞または病原性生物によって発現される抗原または感染症抗原）が含まれる。例えば、適切な抗原には、癌の防止または治療のための腫瘍関連抗原が含まれる。腫瘍関連抗原の例には、βｈＣＧ、ｇｐ１００またはＰｍｅｌ１７、ＨＥＲ２／ｎｅｕ、ＷＴ１、メソセリン、ＣＥＡ、ｇｐ１００、ＭＡＲＴ１、ＴＲＰ－２、メラン－Ａ、ＮＹ－ＥＳＯ－１、ＮＹ－ＢＲ－１、ＮＹ－ＣＯ－５８、ＭＮ（ｇｐ２５０）、イディオタイプ、ＭＡＧＥ－１、ＭＡＧＥ－３、ＭＡＧＥ－Ａ３、チロシナーゼ、テロメラーゼ、ＳＳＸ２、およびＭＵＣ－１抗原、ならびに生殖細胞由来腫瘍抗原の配列の全部または一部を含む配列が含まれるが、これらに限定されない。腫瘍関連抗原には、血液型抗原（例えば、Ｌｅ^{a}、Ｌｅ^{b}、ＬｅＸ、ＬｅＹ、Ｈ－２、Ｂ－１、Ｂ－２抗原）も含まれる。あるいは、１つを超える抗原を、本発明の抗原－抗体構築物内に含めることができる。例えば、ＭＡＧＥ抗原を、アジュバント（ＧＭ－ＣＳＦまたはＩＬ－１２など）と共に他の抗原（メラニンＡ、チロシナーゼ、およびｇｐ１００など）と組み合わせ、抗ＡＰＣ抗体に連結することができる。

【０１４０】

他の適切な抗原には、ウイルス疾患の防止または治療のためのウイルス抗原が含まれる。ウイルス抗原の例には、ＨＩＶ－１ｇａｇ、ＨＩＶ－１ｅｎｖ、ＨＩＶ－１ｎｅｆ、ＨＢＶ（表面抗原またはコア抗原）、ＨＰＶ、ＦＡＳ、ＨＳＶ－１、ＨＳＶ－２、ｐ１７、ＯＲＦ２、およびＯＲＦ３抗原が含まれるが、これらに限定されない。細菌抗原の例には、Ｔｏｘｏｐｌａｓｍａ ｇｏｎｄｉｉまたはＴｒｅｐｏｎｅｍａ ｐａｌｌｉｄｕｍが含まれるが、これらに限定されない。本発明の抗体－細菌抗原コンジュゲートを、炭疽病、ボツリヌス中毒、破傷風、クラミジア、コレラ、ジフテリア、ライム病、梅毒、および結核などの種々の細菌疾患の治療または防止で使用することができる。

【０１４１】

上記抗原の配列は当該分野で周知である。例えば、ＭＡＧＥ－３ ｃＤＮＡ配列の例は米国特許第６，２３５，５２５号（Ｌｕｄｗｉｇ Ｉｎｓｔｉｔｕｔｅ ｆｏｒ Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓｅａｒｃｈ）に記載されており、ＮＹ－ＥＳＯ－１核酸配列およびタンパク質配列の例は米国特許第５，８０４，３８１号および米国特許第６，０６９，２３３号（Ｌｕｄｗｉｇ Ｉｎｓｔｉｔｕｔｅ ｆｏｒ Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓｅａｒｃｈ）に記載されており、メラン－Ａ核酸配列およびタンパク質配列の例は米国特許第５，６２０，８８６号および米国特許第５，８５４，２０３（Ｌｕｄｗｉｇ Ｉｎｓｔｉｔｕｔｅ ｆｏｒ Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓｅａｒｃｈ）に記載されており、ＮＹ－ＢＲ－１核酸配列およびタンパク質配列の例は米国特許第６，７７４，２２６号および米国特許第６，９１１，５２９号（Ｌｕｄｗｉｇ Ｉｎｓｔｉｔｕｔｅ ｆｏｒ Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓｅａｒｃｈ）に記載されており、ＮＹ－ＣＯ－５８核酸配列およびタンパク質配列の例はＷＯ０２０９０９８６号（Ｌｕｄｗｉｇ Ｉｎｓｔｉｔｕｔｅ ｆｏｒ Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓｅａｒｃｈ）に記載されており、ＨＥＲ－２／ｎｅｕタンパク質のアミノ酸配列の例はＧＥＮＢＡＮＫ（登録商標）受入番号ＡＡＡ５８６３７で利用可能であり、ヒト癌胎児性抗原様１（ＣＥＡ－１）のヌクレオチド配列（ｍＲＮＡ）はＧＥＮＢＡＮＫ（登録商標）受入番号ＮＭ＿＿０２０２１９で利用可能である。

【０１４２】

本発明の薬学的組成物および方法で使用することができるＨＰＶ抗原には、例えば、ＨＰＶ－１６抗原、ＨＰＶ－１８抗原、ＨＰＶ－３１抗原、ＨＰＶ－３３抗原、および／ま

たはＨＰＶ－３５抗原が含まれ得、ＨＰＶ－１６抗原および／またはＨＰＶ－１８抗原が適切である。ＨＰＶ－１６のゲノムはＶｉｒｏｌｏｇｙ，１４５：１８１－１８５（１９８５）に記載されており、ＨＰＶ－１８をコードするＤＮＡ配列は米国特許第５，８４０，３０６号（その開示全体が本明細書中で参考として援用される）に記載されている。ＨＰＶ－１６抗原（例えば、ＨＰＶ－１６のＥｌおよび／またはＥ２タンパク質の血清反応領域）は米国特許第６，５３１，１２７号に記載されており、ＨＰＶ－１８抗原（例えば、ＨＰＶ－１８のＬｌおよび／またはＬ２タンパク質の血清反応領域）は米国特許第５，８４０，３０６号に記載されている（その開示が本明細書中で参考として援用される）。同様に、ＨＢＶの完全なゲノムはＧＥＮＢＡＮＫ（登録商標）受入番号ＮＣ＿００３９７７（その開示が本明細書中で参考として援用される）で利用可能である。ＨＣＶのゲノムは、欧州特許出願番号３１８　２１６号（その開示が本明細書中で参考として援用される）に記載されている。ＰＣＴ／ＵＳ９０／０１３４８（本明細書中で参考として援用される）は、ＨＣＶゲノムのクローンの配列情報、ＨＣＶウイルスタンパク質のアミノ酸配列、ならびにＨＣＶタンパク質およびこれに由来するペプチドを含むＨＣＶワクチンのためのかかる組成物の作製および使用方法を開示している。

【０１４３】

タンパク質の抗原ペプチド（すなわち、Ｔ細胞エピトープを含むもの）を、当該分野で周知の種々の様式で同定することができる。例えば、ウェブベースの予測アルゴリズム（ＢＩＭＡＳおよびＳＹＦＰＥＩＴＨＩ）を使用してタンパク質配列を分析し、ＣＴＬによって以前に定義された１０，０００の十分に特徴づけられたＭＨＣ結合ペプチドの内部データベースに適合する潜在的なＭＨＣクラスＩおよびＩＩ結合ペプチドを得ることによってＴ細胞エピトープを予想することができる。高スコアのペプチドをランキングし、所与のＭＨＣ分子に対する高親和性に基づいて「興味深いもの」として選択することができる。

【０１４４】

Ｔ細胞エピトープを含む抗原ペプチドの別の同定方法は、組換え的に産生することができるか、合成で産生することができるか、タンパク質の化学的切断によって一定の制限された条件下で産生することができる所望の長さの非重複のペプチドまたは所望の長さの重複ペプチドにタンパク質を分割し、免疫原性（例えば、Ｔ細胞応答（すなわち、増殖またはリンホカイン分泌）の誘発）について試験する。

【０１４５】

例えば、精巧なマッピング技術によってタンパク質の正確なＴ細胞エピトープを決定するために、Ｔ細胞生物学技術によって決定した場合にＴ細胞刺激活性を有し、それにより、少なくとも１つのＴ細胞エピトープを含むペプチドを、ペプチドのアミノ末端またはカルボキシ末端のいずれかでのアミノ酸残基の付加または欠失によって修飾し、試験して修飾ペプチドに対するＴ細胞反応性の変化を決定することができる。Ｔ細胞生物学技術によって決定した場合に未変性タンパク質配列中の重複領域を共有する２つ以上のペプチドがヒトＴ細胞刺激活性を有することが見出された場合、かかるペプチドの全てまたは一部を含むさらなるペプチドを産生することができ、これらのさらなるペプチドを類似の手順によって試験することができる。この技術の後、ペプチドを選択し、組換え的または合成的に産生する。ペプチドを、種々の要因（ペプチドに対するＴ細胞応答の強度（例えば、刺激指数）が含まれる）に基づいて選択する。次いで、これらの選択されたペプチドの物理的および化学的性質（例えば、溶解性、安定性）を試験して、ペプチドが治療組成物での使用に適切であるかどうか、または、ペプチドが修飾を必要とするかどうかを決定することができる。

【０１４６】

さらに、ワクチンコンジュゲートは、抗原に対する免疫応答も増強する１つまたは複数の免疫賦活薬を含むことができる。本発明の抗体－抗原ワクチンコンジュゲートを、遺伝的または化学的に作製することができる。いずれかの場合、コンジュゲートの抗体部分は、全抗体または抗体の一部（Ｆａｂフラグメントまたは単鎖Ｆｖなど）からなり得る。さ

らに、１つを超える抗原および／または免疫賦活薬をコンジュゲート中に含めることができる。

【０１４７】

化学的に構築された抗体－抗原コンジュゲートを、種々の周知且つ容易に利用可能な架橋試薬を使用して作製することができる。これらの架橋試薬は、同種機能性化合物または異種機能性化合物（Ｎ－スクシンイミジル－３－（２－ピリジルジチオ）プロピオナート（ＳＰＤＰ）、Ｎ－スクシンイミジル－Ｓ－アセチル－チオアセタート（ＳＡＴＡ）、スルホスクシンイミジル４－（Ｎ－マレイミドメチル）シクロヘキサン－１－カルボキシラート（スルホ－ＳＭＣＣ）、５，５'－ジチオビス（２－ニトロ安息香酸）（ＤＴＮＢ）など）であり得、これらは抗樹状細胞抗体および選択された抗原上の異なる反応性アミノ酸または炭水化物の側鎖と共有結合を形成する。他のカップリング剤および架橋剤を使用して、共有結合を生成することもできる（プロテインＡ、カルボジイミド、およびｏ－フェニレンジマレイミド（ｏＰＤＭ）など）（例えば、Ｋａｒｐｏｖｓｋｙら（１９８４）Ｊ．Ｅｘｐ．Ｍｅｄ．１６０：１６８６；Ｌｉｕ，ＭＡら（１９８５）Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ８２：８６４８を参照のこと）。他の方法には、Ｐａｕｌｕｓ（Ｂｅｈｒｉｎｇ Ｉｎｓ．Ｍｉｔｔ．（１９８５）Ｎｏ．７８，１１８－１３２）；Ｂｒｅｎｎａｎら（Ｓｃｉｅｎｃｅ（１９８５）２２９：８１－８３），およびＧｌｅｎｎｉｅら（Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．（１９８７）１３９：２３６７－２３７５）に記載の方法が含まれる。好ましい抱合剤は、ＳＡＴＡおよびスルホ－ＳＭＣＣ（共にＰｉｅｒｃｅ Ｃｈｅｍｉｃａｌ Ｃｏ．（Ｒｏｃｋｆｏｒｄ，ＩＬ）から利用可能）である。免疫賦活薬を、上記と同一の連結方法を使用して本発明の分子コンジュゲートに化学的に連結することもできる。

【０１４８】

別の実施形態では、本発明の抗体を、治療部分（細胞毒素、薬物、または放射性同位体など）に連結する。細胞毒素に抱合する場合、これらの抗体コンジュゲートを「免疫毒素」という。細胞毒素または細胞毒性薬には、細胞に有害な（例えば、死滅させる）任意の薬剤が含まれる。例には、タキソール、サイトカラシンＢ、グラミシジンＤ、臭化エチジウム、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センジオン、ミトキサントロン、ミトラマイシン、アクチノマイシンＤ、１－デヒドロテストステロン、糖質コルチコイド、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、ならびにそのアナログまたはホモログが含まれる。治療薬には、代謝拮抗物質（例えば、メトトレキサート、６－メルカプトプリン、６－チオグアニン、シタラビン、５－フルオロウラシルデカルバジン）、アルキル化剤（例えば、メクロレタミン、チオエパクロラムブシル、メルファラン、カルムスチン（ＢＳＮＵ）およびロムスチン（ＣＣＮＵ）、シクロホスファミド、ブスルファン、ジブロモマンニトール、ストレプトゾトシン、マイトマイシンＣ、およびｃｉｓ－ジクロロジアミン白金（ＩＩ）（ＤＤＰ）シスプラチン）、アントラサイクリン（例えば、ダウノルビシン（以前はダウノマイシン）およびドキソルビシン）、抗生物質（例えば、ダクチノマイシン（以前はアクチノマイシン）、ブレオマイシン、ミトラマイシン、およびアントラマイシン（ＡＭＣ））、ならびに有糸分裂阻害剤（例えば、ビンクリスチンおよびビンブラスチン）が含まれるが、これらに限定されない。本発明の抗体を放射性同位体（例えば、放射性ヨウ素）と抱合して、樹状細胞関連障害（自己免疫疾患または炎症性疾患など）または移植片対宿主疾患の治療のための細胞傷害性放射性医薬品を生成することができる。

【０１４９】

本発明の抗体コンジュゲートを使用して所与の生物学的応答を修飾することができ、薬物部分は、古典的な化学治療薬に制限されないと解釈される。例えば、薬物部分は、所望の生物学的活性を保有するタンパク質またはポリペプチドであり得る。かかるタンパク質には、例えば、酵素活性毒素またはその活性部分（アブリン、リシンＡ、シュードモナス外毒素、またはジフテリア毒素など）；腫瘍壊死因子またはインターフェロン－γなどの

タンパク質；または生物学的応答調節物質（例えば、リンホカイン、インターロイキン－１（「ＩＬ－１」）、インターロイキン－２（「ＩＬ－２」）、インターロイキン－６（「ＩＬ－６」）、顆粒球マクロファージコロニー刺激因子（「ＧＭ－ＣＳＦ」）、顆粒球コロニー刺激因子（「Ｇ－ＣＳＦ」）、または他の成長因子など）が含まれ得る。

【０１５０】

かかる治療部分の抗体への抱合技術は周知である（例えば、Ａｒｎｏｎら，“Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ Ｆｏｒ Ｉｍｍｕｎｏｔａｒｇｅｔｉｎｇ Ｏｆ Ｄｒｕｇｓ Ｉｎ Ｃａｎｃｅｒ Ｔｈｅｒａｐｙ”，ｉｎ Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ Ａｎｄ Ｃａｎｃｅｒ Ｔｈｅｒａｐｙ，Ｒｅｉｓｆｅｌｄら（ｅｄｓ．），ｐｐ．２４３－５６（Ａｌａｎ Ｒ．Ｌｉｓｓ，Ｉｎｃ．１９８５）；Ｈｅｌｌｓｔｒｏｍら，“Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ Ｆｏｒ Ｄｒｕｇ Ｄｅｌｉｖｅｒｙ”，ｉｎ Ｃｏｎｔｒｏｌｌｅｄ Ｄｒｕｇ Ｄｅｌｉｖｅｒｙ（２ｎｄ Ｅｄ．），Ｒｏｂｉｎｓｏｎら（ｅｄｓ．），ｐｐ．６２３－５３（Ｍａｒｃｅｌ Ｄｅｋｋｅｒ，Ｉｎｃ．１９８７）；Ｔｈｏｒｐｅ，“Ａｎｔｉｂｏｄｙ Ｃａｒｒｉｅｒｓ Ｏｆ Ｃｙｔｏｔｏｘｉｃ Ａｇｅｎｔｓ Ｉｎ Ｃａｎｃｅｒ Ｔｈｅｒａｐｙ：Ａ Ｒｅｖｉｅｗ”，ｉｎ Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ ’８４：Ｂｉｏｌｏｇｉｃａｌ Ａｎｄ Ｃｌｉｎｉｃａｌ Ａｐｐｌｉｃａｔｉｏｎｓ，Ｐｉｎｃｈｅｒａら（ｅｄｓ．），ｐｐ．４７５－５０６（１９８５）；“Ａｎａｌｙｓｉｓ，Ｒｅｓｕｌｔｓ，Ａｎｄ Ｆｕｔｕｒｅ Ｐｒｏｓｐｅｃｔｉｖｅ Ｏｆ Ｔｈｅ Ｔｈｅｒａｐｅｕｔｉｃ Ｕｓｅ Ｏｆ Ｒａｄｉｏｌａｂｅｌｅｄ Ａｎｔｉｂｏｄｙ Ｉｎ Ｃａｎｃｅｒ Ｔｈｅｒａｐｙ”，ｉｎ Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ Ｆｏｒ Ｃａｎｃｅｒ Ｄｅｔｅｃｔｉｏｎ Ａｎｄ Ｔｈｅｒａｐｙ，Ｂａｌｄｗｉｎら（ｅｄｓ．），ｐｐ．３０３－１６（Ａｃａｄｅｍｉｃ Ｐｒｅｓｓ １９８５），ａｎｄ Ｔｈｏｒｐｅら，“Ｔｈｅ Ｐｒｅｐａｒａｔｉｏｎ Ａｎｄ Ｃｙｔｏｔｏｘｉｃ Ｐｒｏｐｅｒｔｉｅｓ Ｏｆ Ａｎｔｉｂｏｄｙ－Ｔｏｘｉｎ Ｃｏｎｊｕｇａｔｅｓ”，Ｉｍｍｕｎｏｌ．Ｒｅｖ．，６２：１１９－５８（１９８２）を参照のこと）。

【０１５１】

別の実施形態では、本発明の抗体を使用して、ホールセル（例えば、腫瘍細胞、エフェクター細胞、または微生物病原体）を樹状細胞に直接ターゲティングすることができる。例えば、本発明の抗体をコードする核酸配列を含むベクターでの細胞のトランスフェクションまたは形質導入によって抗ＤＥＣ－２０５抗体を細胞表面上に直接発現することができる。例えば、膜貫通ドメインおよび抗樹状細胞抗体またはその抗原結合フラグメントを含む融合タンパク質をコードする核酸での標的細胞のトランスフェクションによってこれを行うことができる。かかる核酸、融合タンパク質、かかる融合タンパク質を発現する細胞の生成方法は、例えば、米国特許出願第０９／２０３，９５８号（その全体が本明細書中で参考として援用される）に記載されている。あるいは、抗樹状細胞抗体またはその抗原結合フラグメントを、化学的リンカー、脂質タグ、または他の関連する方法の使用によって細胞または病原体に結合させることができる（ｄｅＫｒｕｉｆ，Ｊ．ら（２０００）Ｎａｔ．Ｍｅｄ．６：２２３－２２７；Ｎｉｚａｒｄ，Ｐ．ら（１９９８）ＦＥＢＳ Ｌｅｔｔ．４３３：８３－８８）。表面係留抗ＤＥＣ－２０５抗体を有する細胞を使用して、細胞（例えば、腫瘍細胞または微生物病原体）に対する特異的免疫応答を誘導することができる。

【０１５２】

ＩＩＩ．薬学的組成物

別の実施形態では、本発明は、薬学的に許容可能なキャリアと共に処方した本発明のモノクローナル抗体の１つまたは複数の組み合わせを含む組成物（例えば、薬学的組成物）を提供する。本発明の抗体を含む二重特異性分子または分子コンジュゲートを含む組成物も提供する。１つの実施形態では、組成物は、複数の（例えば、２つ以上の）本発明の単離抗体の組み合わせを含む。好ましくは、組成物の各抗体は、ＤＥＣ－２０５の予め選択した異なるエピトープに結合する。

【０１５３】
本発明の薬学的組成物を、併用療法で（すなわち、他の薬剤と組み合わせて）投与することもできる。例えば、併用療法は、少なくとも１つまたは複数のさらなる治療薬（抗炎症薬、ＤＭＡＲＤ（疾患修飾抗リウマチ薬）、免疫抑制薬、および化学療法薬など）を含む本発明の組成物を含むことができる。本発明の薬学的組成物を、放射線療法と併せて投与することもできる。他の抗体（ＣＤ４特異的抗体またはＩＬ－２特異的抗体など）との同時投与も本発明の範囲内である。ＣＤ４特異的抗体またはＩＬ－２特異的抗体とのかかる組み合わせは、自己免疫疾患および移植片拒絶の治療に特に有用であると見なされる。ＣＴＬＡ４、ＣＤ４０などに対する抗体との組み合わせは、癌および感染症の治療で特に有用である。

【０１５４】
別の実施形態では、ＡＰＣによって迅速に内在化されるワクチンコンジュゲートを、樹状細胞の抗原提示細胞活性（例えば、免疫賦活性サイトカインの放出）を増強するモノクローナル抗体と組み合わせることができる。

【０１５５】
本明細書中で使用する場合、「薬学的に許容可能なキャリア」には、生理学的に適合する任意および全ての溶媒、分散媒、コーティング、抗菌薬および抗真菌薬、等張剤、および吸収遅延剤などが含まれる。好ましくは、キャリアは、静脈内、筋肉内、皮下、非経口、脊髄、または上皮投与（例えば、注射または注入による）に適切である。投与経路に依存して、活性化合物（すなわち、抗体、二重特異性分子、および多重特異性分子）を、材料中にコーティングして、化合物を不活性化し得る酸および他の天然の条件の作用から化合物を保護することができる。

【０１５６】
本発明の抗体および構築物と共に使用することができるアジュバントの例には、フロイント不完全アジュバントおよび完全アジュバント（Ｄｉｆｃｏ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ，Ｄｅｔｒｏｉｔ，Ｍｉｃｈ．）；Ｍｅｒｃｋアジュバント６５（Ｍｅｒｃｋ ａｎｄ Ｃｏｍｐａｎｙ，Ｉｎｃ．，Ｒａｈｗａｙ，Ｎ．Ｊ．）；ＡＳ－２（ＳｍｉｔｈＫｌｉｎｅ Ｂｅｅｃｈａｍ，Ｐｈｉｌａｄｅｌｐｈｉａ，Ｐａ．）、アルミニウム塩（水酸化アルミニウムゲル（ミョウバン）またはリン酸アルミニウムなど）；カルシウム塩、鉄塩、または亜鉛塩；アシル化チロシンの不溶性懸濁液；アシル化糖；カチオンまたはアニオン誘導性ポリサッカリド；ポリホスファゼン；生分解性ミクロスフィア；サイトカイン（ＧＭ－ＣＳＦ、インターロイキン－２、－７、－１２、および他の同様の因子など）；３Ｄ－ＭＰＬ；ＣｐＧオリゴヌクレオチド；およびモノホスホリル脂質Ａ（例えば、３－デ－Ｏ－アシル化モノホスホリル脂質Ａ）が含まれる。

【０１５７】
ＭＰＬアジュバントは、Ｃｏｒｉｘａ Ｃｏｒｐｏｒａｔｉｏｎから利用可能である（Ｓｅａｔｔｌｅ，Ｗａｓｈ、例えば、米国特許第４，４３６，７２７号、同第４，８７７，６１１号、同第４，８６６，０３４号、および同第４，９１２，０９４号を参照のこと）。ＣｐＧ含有オリゴヌクレオチド（ＣｐＧジヌクレオチドがメチル化されていない）が周知であり、例えば、ＷＯ９６／０２５５５号、ＷＯ９９／３３４８８号、および米国特許第６，００８，２００号および同第５，８５６，４６２号に記載されている。免疫賦活剤のＤＮＡ配列も、例えば、Ｓａｔｏら，Ｓｃｉｅｎｃｅ ２７３：３５２，１９９６に記載されている。

【０１５８】
さらなる別のアジュバントには、例えば、サポニン（Ｑｕｉｌ Ａまたはその誘導体（ＱＳ２１およびＱＳ７（Ａｑｕｉｌａ Ｂｉｏｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌｓ Ｉｎｃ．，Ｆｒａｍｉｎｇｈａｍ，Ｍａｓｓ．）が含まれる）；エスチン；ジギトニン；またはカスミソウもしくはキノアのサポニンなど）；モンタニドＩＳＡ ７２０（Ｓｅｐｐｉｃ，Ｆｒａｎｃｅ）；ＳＡＦ（Ｃｈｉｒｏｎ，Ｃａｌｉｆｏｒｎｉａ，Ｕｎｉｔｅｄ Ｓｔａｔｅｓ）；ＩＳＣＯＭＳ（ＣＳＬ）、ＭＦ－５９（Ｃｈｉｒｏｎ）；ＳＢＡＳシリーズ

のアジュバント（例えば、ＳＢＡＳ－２またはＳＢＡＳ－４、ＳｍｉｔｈＫｌｉｎｅ Ｂｅｅｃｈａｍ，Ｒｉｘｅｎｓａｒｔ，Ｂｅｌｇｉｕｍから入手可能）；Ｄｅｔｏｘ（Ｅｎｈａｎｚｙｎ（商標））（Ｃｏｒｉｘａ，Ｈａｍｉｌｔｏｎ，Ｍｏｎｔ．）；ＲＣ－５２９（Ｃｏｒｉｘａ，Ｈａｍｉｌｔｏｎ，Ｍｏｎｔ．）、および他のアミノアルキルグルコサミニド４－リン酸（ＡＧＰ）；ポリオキシエチレンエーテルアジュバント（ＷＯ９９／５２５４９Ａ１号に記載のものなど）；合成イミダゾキノリン（イミキモド［Ｓ－２６３０８、Ｒ－８３７］（Ｈａｒｒｉｓｏｎ，ら，Ｖａｃｃｉｎｅ １９：１８２０－１８２６，２００１など）；およびレシキモド［Ｓ－２８４６３、Ｒ－８４８］（Ｖａｓｉｌａｋｏｓ，ら，Ｃｅｌｌｕｌａｒ ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ ２０４：６４－７４，２０００；抗原提示細胞およびＴ細胞の表面上で構成性発現されるカルボニルおよびアミンのシッフ塩基（ツカレソール（Ｒｈｏｄｅｓ，Ｊ．ら，Ｎａｔｕｒｅ ３７７：７１－７５，１９９５）など）；タンパク質またはペプチドのいずれかとしてのサイトカイン、ケモカイン、および共刺激分子（例えば、炎症促進性サイトカイン（インターフェロン、ＧＭ－ＣＳＦ、ＩＬ－１α、ＩＬ－１β、ＴＧＦ－α、およびＴＧＦ－βなど）、Ｔｈ１インデューサー（インターフェロンγ、ＩＬ－２、ＩＬ－１２、ＩＬ－１５、ＩＬ－１８、およびＩＬ－２１など）、Ｔｈ２インデューサー（ＩＬ－４、ＩＬ－５、ＩＬ－６、ＩＬ－１０、およびＩＬ－１３など）、ならびに他のケモカインおよび共刺激遺伝子（ＭＣＰ－１、ＭＩＰ－１α、ＭＩＰ－１β、ＲＡＮＴＥＳ、ＴＣＡ－３、ＣＤ８０、ＣＤ８６、およびＣＤ４０Ｌなど）が含まれる）；免疫賦活薬ターゲティングリガンド（ＣＴＬＡ－４およびＬ－セレクチンなど）、アポトーシス刺激タンパク質およびペプチド（Ｆａｓなど）；合成脂質ベースのアジュバント（バックスフェクチン（Ｒｅｙｅｓら，Ｖａｃｃｉｎｅ １９：３７７８－３７８６，２００１）、スクアレン、α－トコフェロール、ポリソルベート８０、ＤＯＰＣ、およびコレステロールなど）；内毒素、［ＬＰＳ］（Ｂｅｕｔｌｅｒ，Ｂ．，Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｏｐｉｎｉｏｎ ｉｎ Ｍｉｃｒｏｂｉｏｌｏｇｙ ３：２３－３０，２０００）；Ｔｈ１誘導性サイトカインを産生するようにＴｏｌｌ受容体を誘発するリガンド（合成微生物リポタンパク質、微生物タンパク質ｐ１９、ペプチドグリカン、テイコ酸、および脂質Ａなど）；およびＣＴ（コレラ毒素のサブユニットＡおよびＢ）およびＬＴ（大腸菌由来の熱不安定性エンテロトキシンのサブユニットＡおよびＢ）、熱ショックタンパク質ファミリー（ＨＳＰ）、およびＬＬＯ（リステリオリシンＯ；ＷＯ０１／７２３２９号）が含まれる。これらおよび種々のさらなるＴｏｌｌ様受容体（ＴＬＲ）アゴニストは、例えば、Ｋａｎｚｌｅｒ ｅｔ ａｌ，Ｎａｔｕｒｅ Ｍｅｄｉｃｉｎｅ，Ｍａｙ ２００７，Ｖｏｌ １３，Ｎｏ ５に記載されている。

【０１５９】

「薬学的に許容可能な塩」は、親化合物の所望の生物学的活性を保持し、且ついかなる望ましくない毒物学的影響に影響を及ぼさない塩をいう（例えば、Ｂｅｒｇｅ，Ｓ．Ｍ．，ら（１９７７）Ｊ．Ｐｈａｒｍ．Ｓｃｉ．６６：１－１９を参照のこと）。かかる塩の例には、酸付加塩および塩基付加塩が含まれる。酸付加塩には、非毒性無機酸（塩酸、硝酸、リン酸、硫酸、臭化水素酸、ヨウ化水素酸、および亜リン酸など）および非毒性有機酸（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、ならびに脂肪族および芳香族スルホン酸など）由来の酸付加塩が含まれる。塩基付加塩には、アルカリ土類金属（ナトリウム、カリウム、マグネシウム、およびカルシウムなど）および非毒性有機アミン（Ｎ，Ｎ’－ジベンジルエチレンジアミン、Ｎ－メチルグルカミン、クロロプロカイン、コリン、ジエタノールアミン、エチレンジアミン、およびプロカインなど）由来の塩基付加塩が含まれる。

【０１６０】

本発明の組成物を、当該分野で公知の種々の方法によって投与することができる。当業者に認識されるように、投与経路および／または様式は、所望の結果に応じて変化するであろう。活性化合物を、化合物を急速な放出から保護するキャリア（放出制御処方物（植込錠、経皮貼布、およびマイクロカプセル化送達系が含まれる）など）を使用して調製することができる。生分解性生体適合性ポリマー（エチレンビニルアセタート、ポリ酸無水

物、ポリグリコール酸、コラーゲン、ポリオルソエステル、およびポリ乳酸など）を使用することができる。かかる処方物の多数の調製方法に特許権が与えられているか、一般に当業者に公知である。例えば、Ｓｕｓｔａｉｎｅｄ ａｎｄ Ｃｏｎｔｒｏｌｌｅｄ Ｒｅｌｅａｓｅ Ｄｒｕｇ Ｄｅｌｉｖｅｒｙ Ｓｙｓｔｅｍｓ，Ｊ．Ｒ．Ｒｏｂｉｎｓｏｎ，ｅｄ．，Ｍａｒｃｅｌ Ｄｅｋｋｅｒ，Ｉｎｃ．，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ，１９７８を参照のこと。

【０１６１】

一定の投与経路によって本発明の化合物を投与するために、その不活化を防止するための物質で化合物をコーティングするか化合物と同時投与する必要があり得る。例えば、適切なキャリア（例えば、リポソームまたは希釈剤）を含む化合物を被験体に投与することができる。薬学的に許容可能な希釈剤には、生理食塩水および水性緩衝液が含まれる。リポソームには、水／油／水型ＣＧＦエマルジョンおよび従来のリポソーム（Ｓｔｒｅｊａｎら（１９８４）Ｊ．Ｎｅｕｒｏｉｍｍｕｎｏｌ．７：２７）が含まれる。

【０１６２】

薬学的に許容可能なキャリアには、滅菌注射液または注射懸濁液の即時調製のための滅菌水溶液または分散液および滅菌粉末が含まれる。薬学的に活性な物質のためのかかる媒質および薬剤の使用は当該分野で公知である。任意の従来の媒質または薬剤が活性化合物と不適合である場合を除き、本発明の薬学的組成物中でのその使用が意図される。追加の活性化合物も組成物に組み込むことができる。

【０１６３】

治療組成物は、典型的には、製造および保存条件下で無菌且つ安定でなければならない。組成物を、溶液、マイクロエマルジョン、リポソーム、または高薬物濃度に適切な他の秩序構造として処方することができる。キャリアは、例えば、水、エタノール、ポリオール（例えば、グリセロール、プロピレングリコール、および液体ポリエチレングリコールなど）およびその適切な混合物を含む溶媒または分散媒であり得る。例えば、レシチンなどのコーティングの使用、分散液の場合の必要な粒径の維持、および界面活性剤の使用によって適切な流動性を維持することができる。多くの場合、等張剤（例えば、糖、ポリアルコール（マンニトール、ソルビトールなど）、または塩化ナトリウム）を組成物中に含めることが好ましいであろう。吸収を遅延させる薬剤（例えば、モノステアリン酸塩およびゼラチン）を組成物中に含めることによって注射用組成物の吸収を遅延させることができる。

【０１６４】

上記列挙の成分の１つまたは組み合わせを含む適切な溶媒中に必要量の活性化合物を組み込み、必要に応じてその後に滅菌精密濾過を行うことによって滅菌注射液を調製することができる。一般に、上記列挙の塩基性分散媒および必要な他の成分を含む滅菌ビヒクルへの活性化合物の組み込みによって分散液を調製する。滅菌注射液の調製のための滅菌粉末の場合、好ましい調製方法は、その予め濾過滅菌した溶液から有効成分および任意のさらなる所望の成分の粉末が得られる真空乾燥およびフリーズドライ（凍結乾燥）である。

【０１６５】

最適な所望の反応（例えば、治療反応）が得られるように投薬レジメンを調整する。例えば、単回ボーラスを投与することができるか、いくつかの分割用量を長期間にわたって投与することができるか、治療状況の緊急性に比例して用量を増減することができる。例えば、本発明の抗体を、皮下注射によって１週間に１回または２回投与することができるか、皮下注射によって１ヶ月に１回または２回投与することができる。

【０１６６】

投与の容易さおよび投薬量の均一性のために単位投薬形態で非経口組成物を処方することが特に有利である。本明細書中で使用する場合、単位投薬形態は、試験すべき被験体の単位投薬量として適切な物理的に個別の単位をいい、各単位は必要な薬学的キャリアと組み合わせて所望の治療効果が得られるように計算された所定量の活性化合物を含む。本発明の単位投薬形態の仕様は、（ａ）活性化合物の固有の特徴および達成すべき特定の治療

効果、および（ｂ）個体の感受性を治療するためのかかる活性化合物の調剤技術に固有の制限によって規定され、これらに直接依存する。

【０１６７】

薬学的に許容可能な抗酸化剤の例には、（１）水溶性抗酸化剤（アスコルビン酸、塩酸システイン、重硫酸ナトリウム、メタ重亜硫酸ナトリウム、および亜硫酸ナトリウムなど）；（２）脂溶性抗酸化剤（アスコルビルパルミタート、ブチル化ヒドロキシアニソール（ＢＨＡ）、ブチル化ヒドロキシトルエン（ＢＨＴ）、レシチン、没食子酸プロピル、およびα－トコフェロールなど）、および（３）金属キレート剤（クエン酸、エチレンジアミン四酢酸（ＥＤＴＡ）、ソルビトール、酒石酸、およびリン酸など）が含まれる。

【０１６８】

治療組成物について、本発明の処方物には、経口、鼻腔内、局所（口内および舌下が含まれる）、直腸、膣および／または非経口投与に適切な処方物が含まれる。処方物を都合よく単位投薬形態で示すことができ、薬学分野で公知の任意の方法によって調製することができる。単回投薬形態を産生するためにキャリア物質と組み合わせることができる有効成分の量は、治療される被験体および特定の投与様式に応じて変化するであろう。単回投薬形態を産生するためにキャリア物質と組み合わせることができる有効成分の量は、一般に、治療効果が得られる組成物の量であろう。一般に、１００％のうち、この量は、約０．００１％～約９０％の有効成分、好ましくは約０．００５％～約７０％、最も好ましくは約０．０１％～約３０％の範囲であろう。

【０１６９】

膣投与に適切な本発明の処方物には、当該分野で適切であることが公知のかかるキャリアを含むペッサリー、タンポン、クリーム、ゲル、ペースト、フォーム、または噴霧処方物も含まれる。本発明の組成物の局所または経皮投与のための投薬形態には、粉末、スプレー、軟膏、ペースト、クリーム、ローション、ゲル、溶液、パッチ、および吸入剤が含まれる。活性化合物を、薬学的に許容可能なキャリアおよび必要であり得る任意の防腐剤、緩衝液、または噴射剤と滅菌条件下で混合することができる。

【０１７０】

本明細書中で使用する場合、句「非経口投与」および「非経口で投与する」は、腸内および局所投与以外の投与様式（通常、注射による）を意味し、静脈内、筋肉内、動脈内、髄腔内、包内、眼窩内、心臓内、皮内、腹腔内、経気管、皮下、表皮下、関節内、被膜下、クモ膜下、脊髄内、硬膜外、および胸骨内への注射および注入が含まれるが、これらに限定されない。

【０１７１】

本発明の薬学的組成物中で使用することができる適切な水性および非水性のキャリアの例には、水、エタノール、ポリオール（グリセロール、プロピレングリコール、およびポリエチレングリコールなど）、およびその適切な混合物、植物油（オリーブ油など）、ならびに注射可能な有機エステル（オレイン酸エチルなど）が含まれる。適切な流動性を、例えば、コーティング物質（レシチンなど）の使用、分散液の場合の必要な粒径の維持、および界面活性剤の使用によって維持することができる。

【０１７２】

これらの組成物はまた、アジュバント（防腐剤、湿潤剤、乳化剤、および分散剤など）を含むことができる。微生物の存在を、滅菌手順（前出）および種々の抗菌薬および抗真菌薬（例えば、パラベン、クロロブタノール、およびフェノールソルビン酸など）を含めることの両方によって確実に防止することができる。等張剤（糖および塩化ナトリウムなど）を組成物に含めることも望ましいかも知れない。さらに、注射可能な薬学的形態の吸収を、吸収を遅延させる薬剤（モノステアリン酸アルミニウムおよびゼラチンなど）を含めることによって延長することができる。

【０１７３】

本発明の化合物を医薬品としてヒトおよび動物に投与する場合、本発明の化合物を、単独で投与するか、例えば、０．００１～９０％（より好ましくは、０．００５～７０％（

０．０１～３０％など））の有効成分を薬学的に許容可能なキャリアと組み合わせて含む薬学的組成物として投与することができる。

【０１７４】

選択された投与経路と無関係に、適切な水和形態で使用することができる本発明の化合物および／または本発明の薬学的組成物を、当業者に公知の従来の方法によって薬学的に許容可能な投薬形態に処方する。

【０１７５】

本発明の薬学的組成物中の有効成分の実際の投薬レベルを、患者に有毒でなく特定の患者の望ましい治療反応、組成物、および投与様式を達成するのに有効な有効成分の量が得られるように変化させることができる。選択される投薬レベルは、種々の薬物動態学的要因（使用した本発明の特定の組成物、そのエステル、またはそのアミドの活性、投与経路、投与期間、使用した特定の化合物の排泄率、治療の持続時間、使用した特定の組成物と組み合わせて使用した他の薬物、化合物、および／または材料、治療を受ける患者の年齢、性別、体重、状態、一般的健康状態、および病歴、ならびに医学分野で周知の要因が含まれる）に依存するであろう。当該分野の通常の技術を有する医師または獣医師は、必要な薬学的組成物の有効量を容易に決定し、処方することができる。例えば、医師または獣医師は、薬学的組成物中で使用される本発明の化合物を、所望の治療効果を達成するために必要なレベルより低いレベルで投与を開始し、所望の効果が達成されるまで投薬量を段階的に増加させることができる。一般に、本発明の組成物の適切な１日用量は、治療効果を得るのに有効な最も低い用量である化合物の量であろう。かかる有効用量は、一般に、上記要因に依存するであろう。投与は静脈内、筋肉内、腹腔内、または皮下であることが好ましく、標的部位の近位に投与することが好ましい。必要に応じて、治療組成物の有効な１日用量を、任意選択的に単位投薬形態で１日を通して適切な間隔で個別に投与する２、３、４、５、６、またはそれを超える分割用量として投与することができる。本発明の化合物を単独で投与することが可能であるが、薬学的処方物（組成物）として化合物を投与することが好ましい。

【０１７６】

治療組成物を、当該分野で公知の医療機器を使用して投与することができる。例えば、好ましい実施形態では、本発明の治療組成物を、無針皮下注射デバイス（米国特許第５，３９９，１６３号、同第５，３８３，８５１号、同第５，３１２，３３５号、同第５，０６４，４１３号、同第４，９４１，８８０号、同第４，７９０，８２４号、または同第４，５９６，５５６に開示のデバイスなど）を使用して投与することができる。本発明で有用な周知のインプラントおよびモジュールの例には、以下が含まれる：米国特許第４，４８７，６０３号（制御された速度での投薬のための植込み可能な微量注入ポンプを開示）；米国特許第４，４８６，１９４号（皮膚を介した薬物の投与のための治療デバイスを開示）；米国特許第４，４４７，２３３号（正確な注入速度での薬物送達のための薬物注入ポンプを開示）；米国特許第４，４４７，２２４号（連続薬物送達のための変流量植込み式注入装置を開示）；米国特許第４，４３９，１９６号（多室区画を有する浸透圧薬物送達系を開示）；および米国特許第４，４７５，１９６号（浸透圧薬物送達系を開示）。多数の他のかかるインプラント、送達系、およびモジュールは、当業者に公知である。

【０１７７】

一定の実施形態では、本発明の抗体を、確実にｉｎ　ｖｉｖｏで適切に分配されるように処方することができる。例えば、血液脳関門（ＢＢＢ）は、多数の高親水性化合物を排除する。確実に本発明の治療化合物がＢＢＢを通過するために（必要に応じて）、これらを、例えば、リポソーム中に処方することができる。リポソームの製造方法については、例えば、米国特許第４，５２２，８１１号；同第５，３７４，５４８号；および同第５，３９９，３３１号を参照のこと。リポソームは、特定の細胞または器官に選択的に輸送され、それにより、ターゲティングされた薬物送達が増強される１つまたは複数の部分を含むことができる（例えば、Ｖ．Ｖ．Ｒａｎａｄｅ（１９８９）Ｊ．Ｃｌｉｎ．Ｐｈａｒｍａｃｏｌ．２９：６８５を参照のこと）。例示的なターゲティング部分には、葉酸塩また

はビオチン（例えば、Ｌｏｗらの米国特許第５，４１６，０１６号を参照のこと）；マンノシド（Ｕｍｅｚａｗａら，（１９８８）Ｂｉｏｃｈｅｍ．Ｂｉｏｐｈｙｓ．Ｒｅｓ．Ｃｏｍｍｕｎ．１５３：１０３８）；抗体（Ｐ．Ｇ．Ｂｌｏｅｍａｎら（１９９５）ＦＥＢＳ Ｌｅｔｔ．３５７：１４０；Ｍ．Ｏｗａｉｓら（１９９５）Ａｎｔｉｍｉｃｒｏｂ．Ａｇｅｎｔｓ Ｃｈｅｍｏｔｈｅｒ．３９：１８０）；界面活性剤プロテインＡ受容体（Ｂｒｉｓｃｏｅら（１９９５）Ａｍ．Ｊ．Ｐｈｙｓｉｏｌ．１２３３：１３４）、本発明の処方物および本発明の分子の成分を含むことができる異なる種；ｐ１２０（Ｓｃｈｒｅｉｅｒら（１９９４）Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．２６９：９０９０）が含まれる（Ｋ．Ｋｅｉｎａｎｅｎ；Ｍ．Ｌ．Ｌａｕｋｋａｎｅｎ（１９９４）ＦＥＢＳ Ｌｅｔｔ．３４６：１２３；Ｊ．Ｊ．Ｋｉｌｌｉｏｎ；Ｉ．Ｊ．Ｆｉｄｌｅｒ（１９９４）Ｉｍｍｕｎｏｍｅｔｈｏｄｓ ４：２７３も参照のこと）。本発明の１つの実施形態では、本発明の治療化合物をリポソーム中に処方し、より好ましい実施形態では、リポソームはターゲティング部分を含む。最も好ましい実施形態では、リポソーム中の治療化合物を、腫瘍または感染の近位にある部位へのボーラス注射によって送達させる。組成物は、容易にシリンジで使用される範囲の流動物でなければならない。組成物は、製造および保存条件下で安定でなければならず、細菌および真菌などの微生物の夾雑作用に対して保存されなければならない。

【０１７８】

化合物が癌を阻害する能力を、ヒト腫瘍における有効性を予測する動物モデル系で評価することができる。あるいは、組成物のこの性質を、当業者に公知のアッセイによる化合物の阻害能力（ｉｎ ｖｉｔｒｏでのかかる阻害）の試験によって評価することができる。治療有効量の治療化合物は、被験体における腫瘍サイズを減少させることができるか、そうでなければ、症状を改善することができる。当業者は、被験体のサイズ、被験体の症状の重症度、および選択された特定の組成物または投与経路などの要因に基づいてかかる量を決定することができるであろう。

【０１７９】

抗体が種々の標的細胞または病原体に対する抗原提示を増強するか細胞傷害性Ｔ細胞（ＣＴＬ）応答を誘導する能力を、当該分野で周知の方法に従って評価することもできる。

【０１８０】

組成物は、無菌であり、且つ組成物がシリンジによって送達可能な範囲の流動物でなければならない。水に加えて、キャリアは、等張緩衝化生理食塩水、エタノール、ポリオール（例えば、グリセロール、プロピレングリコール、および液体ポリエチレングリコールなど）、およびその適切な混合物であり得る。例えば、レシチンなどのコーティングの使用、分散液の場合の必要な粒径の維持、および界面活性剤の使用によって適切な流動性を維持することができる。多くの場合、等張剤（例えば、糖、ポリアルコール（マンニトールまたはソルビトールなど）、および塩化ナトリウム）を組成物中に含めることが好ましい。吸収を遅延させる薬剤（例えば、モノステアリン酸塩またはゼラチン）を組成物中に含めることによって注射用組成物の吸収を延長ことができる。

【０１８１】

活性化合物が適切に保護される場合、上記のように、化合物を、例えば、不活性希釈物または吸収可能な食用キャリアと共に経口投与することができる。

【０１８２】

ＩＶ．本発明の使用および方法

１つの実施形態では、本発明の抗体、二重特異性分子、および分子コンジュゲートを使用して、種々の疾患および容態を治療および／または防止（例えば、免疫化）することができる。

【０１８３】

本発明の抗体を使用して治療することができる原発性疾患の適応症の１つは癌である。これには、結腸癌、黒色腫、リンパ腫、前立腺癌腫、膵臓癌腫、膀胱癌腫、線維肉腫、横紋筋肉腫、肥満細胞腫、乳腺腺癌、白血病、またはリウマチ様線維芽細胞腫が含まれるが

、これらに限定されない。別の原発性疾患の適応症は、感染症（ＨＩＶ、肝炎（例えば、Ａ、Ｂ、およびＣ）、インフルエンザ、ヘルペス、ジアルジア属、マラリア、リーシュマニア属、黄色ブドウ球菌、緑膿菌が含まれるが、これらに限定されない）である。別の原発性疾患の適応症には、自己免疫疾患が含まれる。

【０１８４】

治療で使用するために、本発明のワクチンコンジュゲートを、単独または免疫賦活薬と共に被験体に直接（すなわち、ｉｎ　ｖｉｖｏで）投与することができる。１つの態様では、免疫賦活薬をコンジュゲートに連結する。あるいは、最初にコンジュゲートをＡＰＣ（樹状細胞など）と接触させ（例えば、培養またはインキュベーションによる）、その後に被験体に細胞を投与する（すなわち、ｅｘ　ｖｉｖｏで）ことによって、コンジュゲートを被験体に直接投与することができる。投与前にコンジュゲートがＡＰＣによってプロセシングおよび提示されるようなコンジュゲートのＡＰＣとの接触および送達も、抗原または細胞「負荷」という。ＡＰＣへの抗原負荷技術は当該分野で周知であり、例えば、Ｇｕｎｚｅｒ　ａｎｄ　Ｇｒａｂｂｅ，Ｃｒｉｔ　Ｒｅｖ　Ｉｍｍｕｎｏｌ　２１（１－３）：１３３－４５（２００１）およびＳｔｅｉｎｍａｎ，Ｅｘｐ　Ｈｅｍａｔｏｌ　２４（８）：８５９－６２（１９９６）が含まれる。

【０１８５】

全ての場合において、ワクチンコンジュゲートおよび免疫賦活薬を、その所望の治療効果を発揮するのに有効な量で投与する。用語「有効量」は、所望の生物学的効果を実現するのに必要であるか十分な量をいう。例えば、有効量は、腫瘍、癌、または細菌、ウイルス、もしくは真菌の感染を排除するのに必要な量であり得る。任意の特定の適用についての有効量は、治療を受ける疾患もしくは容態、投与される特定のコンジュゲート、被験体のサイズ、または疾患もしくは容態の重症度などの要因に応じて変化し得る。当業者は、過度の実験を必要とせずに特定の多重特異性分子の有効量を経験的に決定することができる。

【０１８６】

ワクチンコンジュゲートに好ましい投与経路には、例えば、注射（例えば、皮下、静脈内、非経口、腹腔内、髄腔内）が含まれる。注射は、ボーラス注射または連続注入であり得る。他の投与経路には、経口投与が含まれる。

【０１８７】

本発明のワクチンコンジュゲートを、アジュバントおよび他の治療薬と同時投与することもできる。本明細書中で使用する場合、用語「投与する」には、本発明の抗体およびコンジュゲートとアジュバントおよび他の薬剤の同時投与、個別の投与、または連続投与（投与レジメンの一部としての投与が含まれる）が含まれると認識されるであろう。コンジュゲートを、典型的には、薬学的に許容可能なキャリアのみまたはかかる薬剤と組み合わせて処方する。かかるキャリアの例には、溶液、溶媒、分散媒、遅延剤、およびエマルジョンなどが含まれる。薬学的活性物質のためのかかる媒質の使用は当該分野で周知である。分子との使用に適切な任意の他の従来のキャリアは、本発明の範囲内に含まれる。

【０１８８】

ワクチンコンジュゲートとの同時投与に適切な薬剤には、他の抗体、細胞毒素、および／または薬物が含まれる。１つの実施形態では、薬剤は、免疫応答を補助するか誘導することが公知の抗ＣＴＬＡ－４抗体である。別の実施形態では、薬剤は化学療法薬である。ワクチンコンジュゲートを、照射と組み合わせて投与することもできる。

【０１８９】

腫瘍の治療における本発明の抗体およびコンジュゲートとの同時投与に適切な化学療法薬には、例えば、タキソール、サイトカラシンＢ、グラミシジンＤ、臭化エチジウム、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センジオン、ミトキサントロン、ミトラマイシン、アクチノマイシンＤ、１－デヒドロテストステロン、糖質コルチコイド、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、ならびにそのアナログまたはホモログが含まれる。さらなる薬剤には、例えば、代謝拮抗物質（例えば、メトトレキサート、６－メルカプトプリン、６－チオグアニン、シタラビン、５－フルオロウラシルデカルバジン）、アルキル化剤（例えば、メクロレタミン、チオエパクロラムブシル、メルファラン、カルムスチン（ＢＳＮＵ）およびロムスチン（ＣＣＮＵ）、シクロホスファミド、ブスルファン、ジブロモマンニトール、ストレプトゾトシン、マイトマイシンＣ、およびシス－ジクロロジアミン白金（ＩＩ）（ＤＤＰ）シスプラチン）、アントラサイクリン（例えば、ダウノルビシン（以前はダウノマイシン）およびドキソルビシン）、抗生物質（例えば、ダクチノマイシン（以前はアクチノマイシン）、ブレオマイシン、ミトラマイシン、およびアントラマイシン（ＡＭＣ））、および有糸分裂阻害剤（例えば、ビンクリスチンおよびビンブラスチン）、およびテモゾロミドが含まれる。

【０１９０】

例えば、免疫細胞（例えば、調節性Ｔ細胞、ＮＫＴ細胞、マクロファージ、骨髄由来サプレッサー細胞、未成熟または抑制性樹状細胞）によって免疫抑制活性を欠失または阻害する薬剤または、腫瘍または腫瘍の局所微小環境中の宿主細胞によって産生される抑制因子（例えば、ＴＧＦβ、インドールアミン２，３ジオキシゲナーゼ－ＩＤＯ）を、本発明の抗体およびコンジュゲートと共に投与することもできる。かかる薬剤には、抗体および小分子薬物（１メチルトリプトファンまたは誘導体などのＩＤＯインヒビターなど）が含まれる。

【０１９１】

別の実施形態では、本発明の抗体を使用して、自己免疫障害、免疫系障害、または炎症性障害（樹状細胞による免疫調節に関連する異常または望ましくない免疫活性によって特徴づけられる障害）を有する被験体を治療することができる。本発明の抗樹状細胞での治療から恩恵を受け得る自己免疫障害、免疫系障害、および炎症性障害には、関節リウマチ、多発性硬化症、免疫化介在性糖尿病または１型真性糖尿病、重症筋無力症、悪性貧血、アジソン病、シェーグレン症候群、乾癬、エリテマトーデス、炎症性腸疾患（クローン病および潰瘍性大腸炎など）、強皮症／レイノー症候群、ライター症候群、および自己免疫性甲状腺疾患（橋本甲状腺炎およびグレーブス病など）が含まれる。例えば、自己免疫障害を罹患した被験体は、自己抗原の樹状細胞媒介性提示の阻害から恩恵を受け得る。

【０１９２】

本発明の抗体を、アレルギーおよびアレルギー性障害の全ての形態（アレルギー性眼科障害（アレルギー性結膜炎、春季結膜炎、春季角結膜炎、および巨大乳頭性結膜炎が含まれる）；アレルギー性鼻部障害（アレルギー性鼻炎および副鼻腔炎が含まれる）；アレルギー性耳障害（耳管掻痒が含まれる）；上気道および下気道のアレルギー性障害（内因性喘息および外因性喘息が含まれる）；アレルギー性皮膚障害（皮膚炎、湿疹、および蕁麻疹が含まれる）；およびアレルギー性胃腸管障害が含まれるが、これらに限定されない）の防止および治療のために使用することもできる。

【０１９３】

かかる免疫障害の治療のための本発明の抗体との同時投与に適切な薬剤には、例えば、免疫抑制薬（ラパマイシン、シクロスポリン、およびＦＫ５０６など）；抗ＴＮＦａ薬（エタネルセプト、アダリムマブ、およびインフリキシマブなど）；およびステロイドが含まれる。特定の天然ステロイドおよび合成ステロイドの例には、例えば、アルドステロン、ベクロメタゾン、βメタゾン、ブデソニド、クロプレドノール、コルチゾン、コルチバゾール、デオキシコルトン、デソニド、デスオキシメタゾン、デキサメタゾン、ジフルオロコルトロン、フルクロロロン、フルメタゾン、フルニソリド、フルオシノロン、フルオシノニド、フルオコルチンブチル、フルオロコルチゾン、フルオロコルトロン、フルオロメトロン、フルランドレノロン、フルチカゾン、ハルシノニド、ヒドロコルチゾン、イコメタゾン、メプレドニゾン、メチルプレドニゾロン、パラメタゾン、プレドニゾロン、プレドニゾン、チキソコルトール、およびトリアムシノロンが含まれる。

【０１９４】
本発明の抗ＤＥＣ－２０５抗体を使用して治療することができる疾患の１つの例には、移植片拒絶および移植片対宿主疾患が含まれる。
【０１９５】
移植片拒絶
ここ数年、皮膚、腎臓、肝臓、心臓、肺、膵臓、および骨髄などの組織および臓器の外科的移植技術の効率が非常に改善されている。おそらく、主な未解決の問題は、レシピエントにおける移植した同種移植片または臓器に対する免疫寛容を誘導するのに満足な薬剤の欠如である。同種細胞または同種臓器を宿主に移植する場合（すなわち、ドナーおよび被提供者が同種由来の異なる個体である）、宿主免疫系は移植片中の外来抗原に対して免疫応答を開始し（宿主対移植片疾患）、それにより、移植組織が破壊される可能性が高い。ＣＤ８＋細胞、ＣＤ４＋細胞、および単球は全て移植用組織の拒絶に関与する。本発明の抗体は、被提供者における樹状細胞媒介性の同種抗原誘導性免疫応答を阻害し、それにより、かかる細胞の移植組織または臓器の破壊の関与を防止するのに有用である。
【０１９６】
移植片対宿主疾患
本発明の抗体の関連する用途は、「移植片対宿主」疾患（ＧＶＨＤ）に関与する免疫応答の調整での使用である。ＧＶＨＤは、免疫適格細胞を同種レシピエントに導入した場合に起こる潜在的に致命的な疾患である。この状況では、ドナーの免疫担当細胞がレシピエント中の組織に攻撃し得る。皮膚、腸上皮、および肝臓の組織は常習的な標的であり、一連のＧＶＨＤ中に破壊され得る。この疾患は骨髄移植などにおいて免疫組織が移植された場合に特に深刻な問題を示すが、他の症例（心臓移植および肝臓移植が含まれる）でも重症度の低いＧＶＨＤが報告されている。本発明の治療薬を使用して、宿主抗原提示細胞（例えば、樹状細胞）の活性を阻害する。
【０１９７】
本発明を、さらに、以下の実施例によってさらに例示するが、実施例によってさらに制限されると解釈すべきではない。本出願を通して引用された配列表、図面、ならびに全てのリファレンス、特許、および公開された特許出願の内容は、本明細書中で参考として明確に援用される。
【実施例】
【０１９８】
（実施例１）
ＤＥＣ－２０５特異的ヒトモノクローナル抗体（ＨｕＭａｂ）の生成
ヒト抗ＤＥＣ－２０５モノクローナル抗体を、ＨｕＭＡｂ（登録商標）トランスジェニックマウス（「ＨｕＭａｂ」はＭｅｄａｒｅｘ，Ｉｎｃ．，Ｐｒｉｎｃｅｔｏｎ，ＮｅｗＪｅｒｓｅｙの登録商標である）のＨＣ２／ＫＣｏ７株の可溶性ヒトＤＥＣ－２０５抗原での免疫化によって生成した。ＨＣ２／ＫＣｏ７　ＨｕＭＡｂマウスを、米国特許第５，７７０，４２９号および同第５，５４５，８０６号（その開示全体が本明細書中で参考として援用される）に記載のように生成した。
【０１９９】
抗原および免疫化：抗原は、抗体Ｆｃドメインと融合したＤＥＣ－２０５細胞外ドメイン（１０個全てのレクチン結合ドメインを含む）を含む可溶性融合タンパク質であった。ヒトＤＥＣ－２０５の核酸配列およびアミノ酸配列は、ＰＣＴ特許公開番号ＷＯ９６０２３８８２号（Ｓｔｅｉｎｍａｎ）に記載されている。抗原を、最初の免疫化のためのフロイント完全（Ｓｉｇｍａ）アジュバントと混合した。その後、抗原をフロイント不完全（Ｓｉｇｍａ）アジュバントと混合した。さらなるマウスを、可溶性ＤＥＣ－２０５タンパク質を含むＲＩＢＩ　ＭＰＬ　ｐｌｕｓ　ＴＤＭアジュバント系（Ｓｉｇｍａ）で免疫化した。５～２５μｇの可溶性組換えＤＥＣ－２０５抗原を含むＰＢＳまたはヒトＤＥＣ－２０５の表面発現のためにトランスフェクションした5×10^{6}ＣＨＯ細胞を含むＰＢＳを、アジュバントと１：１で混合した。マウスの腹膜腔内に、１００μｌの調製した抗原

を１４日毎に注射した。抗ＤＥＣ－２０５力価を生じた動物に、１０μｇの可溶性組換えＤＥＣ－２０５抗原を融合の３～４日前にｉｖ注射した。マウス脾臓を採取し、単離下脾細胞をハイブリドーマ調製のために使用した。

【０２００】

ハイブリドーマの調製：Ｐ３ｘ６３Ａｇ８．６５３マウス骨髄腫細胞株（ＡＴＣＣ ＣＲＬ１５８０）を融合のために使用した。１０％ＦＢＳを含むＲＰＭＩ１６４０（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ）を使用して、骨髄腫細胞を培養した。さらなる培地用サプリメントをハイブリドーマ成長培地に添加した。この培地は、３％Ｏｒｉｇｅｎ－ハイブリドーマクローニング因子（Ｉｇｅｎ）、１０％ＦＢＳ（Ｓｉｇｍａ）、Ｌ－グルタミン（Ｇｉｂｃｏ）、０．１％ゲンタマイシン（Ｇｉｂｃｏ）、２－メルカプトエタノール（Ｇｉｂｃｏ）、ＨＡＴ（Ｓｉｇｍａ；１．０×１０^{4}Ｍヒポキサンチン、４．０×１０$^{-7}$Ｍアミノプテリン、１．６×１０$^{-5}$Ｍチミジン）、またはＨＴ（Ｓｉｇｍａ；１．０×１０$^{-4}$Ｍヒポキサンチン、１．６×１０$^{-5}$Ｍチミジン）培地を含んでいた。

【０２０１】

脾臓細胞を６５３骨髄腫細胞と６：１の比率で混合し、遠心分離によってペレット化した。融合を容易にするために慎重に混合しながらポリエチレングリコールを滴下した。ハイブリドーマを、視覚可能なコロニーが確立されるようになるまで１～２週間成長させた。上清を採取し、ヒトκ鎖特異的捕捉を使用したＥＬＩＳＡおよびヒトＦｃ特異的検出によってヒトＩｇＧの最初のスクリーニングのために使用した。次いで、ＩｇＧ陽性上清を、フローサイトメトリーまたはＤＥＣ－２０５ＥＬＩＳＡの使用によってＤＥＣ－２０５特異性についてアッセイした。

【０２０２】

特異的ＨｕＭａｂＩｇＧを産生するハイブリドーマをサブクローニングし、拡大した。次いで、産生されたＨｕＭａｂを、標準的な条件にしたがったプロテインＡカラムクロマトグラフィによって精製して、特に興味深い多数の抗体を単離した。

【０２０３】

（実施例２）

表面プラズモン共鳴（ＳＰＲ）によるＨｕＭａｂの親和定数および速度定数の決定

実施例１由来の種々のヒト抗ＤＥＣ－２０５抗体の結合親和性および結合反応速度を、製造者のガイドラインにしたがってＢｉａｃｏｒｅ（商標）２０００ＳＰＲ装置（Ｂｉａｃｏｒｅ ＡＢ，Ｕｐｐｓａｌａ，Ｓｗｅｄｅｎ）を使用したＢｉａｃｏｒｅ（商標）表面プラズモン共鳴（ＳＰＲ）分析によって試験した。

【０２０４】

精製した組換えヒトＤＥＣ－２０５融合物（またはコントロール）のタンパク質を、製造者のガイドラインに従ってＢｉａｃｏｒｅ提供のアミンカップリングキット（ＢＩＡｃｏｒｅ製品番号ＢＲ－１０００－５０、カップリング試薬Ｎ－ヒドロキシスクシンイミド（ＮＨＳ）および１－エチル－３－（３－ジメチルアミノプロピル）カルボジイミドヒドロクロリド（ＥＤＣ）を含む）を使用した標準的なアミンカップリング化学を使用してＢｉａｃｏｒｅ（商標）ＣＭ５センサチップ（金表面と共有結合したカルボキシメチル化デキストラン；Ｂｉａｃｏｒｅ製品番号ＢＲ－１０００－１４）に共有結合させた。低レベルのリガンドを固定して、認められたR_{MAX}がほぼ２００ＲＵであるように動態パラメータに及ぼす分析物の任意の物質移行の影響を制限した。

【０２０５】

ＨＢＳ－ＮＰ緩衝液（ＨＢＳ－Ｎ緩衝液、Ｂｉａｃｏｒｅ製品番号ＢＲ－１００３－６９：４－（２－ヒドロキシエチル）－１－ピペラジンエタンスルホン酸（ＨＥＰＥＳ）０．２４％、塩化ナトリウム０．８８％、十分量の水を含み、ろ過／脱気し、Ｐ２０の２０００倍希釈物で室温に予め平衡化した）中のセンサチップ上に抗体を１．２５～２００ｎＭの濃度および流速３５μｌ／分で流すことによって結合を測定した。抗原－抗体の会合速度および解離速度を、それぞれの場合についておよそ３００～６００秒間追跡した。

【０２０６】

「バックグラウンド」減算のために無関係のタンパク質を使用して、各場合における対応するコントロール実験を行った。１８ｍＭ　ＮａＯＨの３５μｌ／分で１７秒間の単回注射を、研究を通して再生条件として使用した。

【０２０７】

それぞれの場合にＢｉａｃｏｒｅの動態学ウィザードを使用して、ＨＢＳ－ＮＰランニング緩衝液で希釈した一連の濃度の分析物から動態パラメータを誘導した。製造者のガイドラインに従ってＢｉａｃｏｒｅ（商標）動態学ウィザードソフトウェア（Ｂｉａｃｏｒｅ　ＡＢ）を使用して、会合および解離曲線を１：１ラングミュア結合モデルにフィッティングした。決定した親和性パラメータおよび動態パラメータ（バックグラウンド減算した）を、以下の表１に示す。各抗体について、示した図は、それぞれの場合に個別に調製したセンサチップを使用した２つの個別の一連の実験の平均である（ここで、ｋａ＝会合速度定数、ｋｄ＝解離速度定数、K_D＝解離平衡定数（親和性の基準）、K_A＝会合平衡定数、Ｒｍａｘ＝最大ＳＰＲ応答シグナル）。

【０２０８】

【表１】

表1

mAb #	mAb ID	ka (1/Ms)	kd (1/s)	K_A (1/M)	K_D (M)	RMax (RU)
#1	3A4-1C10	1.5×10^{6}	9.6×10^{-5}	1.6×10^{10}	6.6×10^{-11}	278
#2	5A8-1F1	3.6×10^{5}	2.0×10^{-4}	2.1×10^{9}	1.5×10^{-9}	172
#3	3C7-3A3	1.7×10^{5}	7.6×10^{-4}	5.2×10^{8}	5.6×10^{-9}	133
#4	2D3-1F5	3.3×10^{5}	2.2×10^{-5}	1.5×10^{10}	6.8×10^{-11}	275
#5	3D6-2F4	1.8×10^{6}	1.2×10^{-4}	1.5×10^{10}	8.0×10^{-11}	294
#6	5D12-5G1	5.4×10^{5}	3.2×10^{-4}	2.0×10^{9}	7.0×10^{-10}	272
#7	1G6-1G6	1.4×10^{6}	3.0×10^{-4}	4.7×10^{9}	2.3×10^{-10}	249
#8	3G9-2D2	9.0×10^{5}	1.9×10^{-4}	4.7×10^{9}	2.4×10^{-10}	268

（実施例３）

ヒトＤＥＣ－２０５を発現する細胞へのＨｕＭａｂｓの結合

抗ＤＥＣ－２０５ＨｕＭａｂがその表面上のヒトＤＥＣ－２０５を発現するＣＨＯ－Ｓ細胞上のＤＥＣ－２０５に結合する能力を、以下のようにフローサイトメトリーによって調査した。

【０２０９】

その表面上のヒトＤＥＣ－２０５を発現するＣＨＯ－Ｓ細胞への結合について抗体を試験した。プロテインＡ精製したＨｕＭａｂである３Ｄ６－２Ｆ４、３Ｄ６－４Ｃ８、３Ｇ９－２Ｄ２、５Ａ８－１Ｆ１、２Ｄ３－１Ｆ５－２Ａ９、３Ｃ７－３Ａ３、５Ｄ１２－５

Ｇ１、１Ｇ６－１Ｇ６、および３Ａ４－１Ｃ１０を、ヒトＤＥＣ－２０５を発現するＣＨＯ－Ｓ細胞およびＣＨＯ－Ｓコントロール細胞と４℃でインキュベートした。全抗体を、飽和濃度で使用した。１時間後、細胞を、０．１％ＢＳＡおよび０．０５％NaN_3（ＰＢＡ）を含むＰＢＳで洗浄し、結合した抗体を、ＰＥ標識したヤギ抗ヒトＩｇＧＦｃ特異的プローブとの細胞の４℃でのインキュベーションによって検出した。過剰なプローブをＰＢＡを使用して細胞から洗い流し、細胞に結合した蛍光を、製造者の説明書にしたがってＬＳＲ（商標）装置（ＢＤ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ，ＮＪ，ＵＳＡ）を使用した分析によって決定した。結果を図１に示す。

【０２１０】

図１に示すように、ＨｕＭａｂは、ヒトＤＥＣ－２０５を発現するＣＨＯ－Ｓ細胞への高レベルの結合を示した。これらのデータは、これらの抗体がコントロール細胞を比較して生きているＣＨＯ－Ｓ細胞上に発現したヒトＤＥＣ－２０５に有効且つ特異的に結合することを証明する。

【０２１１】

（実施例４）

ヒト樹状細胞へのＨｕＭａｂの結合

ヒト末梢血単核球（ＰＢＭＣ）を、Ｌｅｕｋｏｐａｋ血小板除去調製物の密度勾配遠心分離によって得た。単球を、２時間の組織培養フラスコへの接着によって単離し、次いで、２ｎｇ／ｍｌ　ＧＭ－ＣＳＦおよび１０ｎｇ／ｍｌ　ＩＬ－４を含むマクロファージ無血清培地（Ｇｉｂｃｏ）との５～７日間のインキュベーションによって樹状細胞に分化させた。

【０２１２】

抗ＤＥＣ－２０５　ＨｕＭａｂが上記のように調製したヒト樹状細胞上のＤＥＣ－２０５に結合する能力を、以下のようにフローサイトメトリーによって調査した。

【０２１３】

プロテインＡ精製したＨｕＭａｂである３Ｄ６－２Ｆ２、３Ｄ６－４Ｃ８、３Ｇ９－２Ｄ２、５Ａ８－１Ｆ１、２Ｄ３－１Ｆ５－２Ａ９、３Ｃ７－３Ａ３、５Ｄ１２－５Ｇ１、１Ｇ６－１Ｇ６、および３Ａ４－１Ｃ１０、ならびにアイソタイプコントロール（ヒトＩｇＧ）を、ヒト樹状細胞と４℃でインキュベートした。全抗体を飽和濃度で使用した。１時間後、細胞を、０．１％ＢＳＡおよび０．０５％NaN_3（ＰＢＡ）を含むＰＢＳで洗浄し、結合した抗体をＰＥ標識したヤギ抗ヒトＩｇＧ　Ｆｃ特異的プローブとの細胞の４℃でのインキュベーションによって検出した。過剰なプローブをＰＢＡを使用して細胞から洗い流し、細胞に結合した蛍光を、製造者の説明書にしたがってＬＳＲ（商標）装置（ＢＤ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ、ＮＪ、ＵＳＡ）を使用した分析によって決定した。結果を図２に示す。これは、ＨｕＭａｂがアイソタイプコントロールと比較してヒト樹状細胞への高レベルの結合を示すことを示す。

【０２１４】

（実施例５）

ＤＥＣ－２０５に対するＨｕＭＡｂの結合特性を決定するためのＥＬＩＳＡアッセイ

マイクロタイタープレートを可溶性ＤＥＣ－２０５／Ｆｃ融合タンパク質を含むＰＢＳでコーティングし、次いで、５％ウシ血清アルブミンを含むＰＢＳでブロッキングした。プロテインＡ精製したＨｕＭａｂおよびアイソタイプコントロールを飽和濃度で添加し、３７℃でインキュベートした。プレートをＰＢＳ／Ｔｗｅｅｎで洗浄し、次いで、アルカリホスファターゼに抱合したヤギ抗ヒトＩｇＧ　Ｆｃ特異的ポリクローナル試薬と３７℃でインキュベートした。洗浄後、プレートをｐＮＰＰ基質（１ｍｇ／ｍｌ）で発色させ、マイクロタイタープレートリーダーを使用してＯＤ４０５～６５０で分析した。結果を図３に示す。これは、アイソタイプコントロールと比較してＨｕＭａｂが高レベル結合を示すことを示す。

【０２１５】

（実施例６）

抗体内在化アッセイ

ヒト単球由来樹状細胞５×１０^{5}／アリコートをヒトＩｇＧ（１ｍｇ／ｍｌ）とインキュベートして、非特異的結合をブロッキングした。次いで、細胞を、結合のために１００μｇ／ｍｌのＦＩＴＣ抱合抗Ｄｅｃ－２０５ＨｕＭａｂである３Ｇ９－２Ｄ２を含むブロッキング緩衝液と氷上で３０分間インキュベートし、内在化のためにその後に３７℃に０、１０、３０、６０、および１２０分間移した。同一濃度のＦＩＴＣ抱合ヒトＩｇＧ１をコントロールとして使用した。次いで、細胞を洗浄し、１％パラホルムアルデヒドで固定した。固定した細胞を洗浄し、水に再懸濁し、顕微鏡スライド上にサイトスピンした。Ｚｅｉｓｓ　ＬＳＭ５１０　Ｍｅｔａ共焦点顕微鏡で画像を捕捉した。結果を図４に示す。これは、ＦＩＴＣ標識ＨｕＭａｂがコントロールと比較して樹状細胞に有効に内在化されることを示すことを示す。

【０２１６】

（実施例７）

抗体の配列決定

実施例１に記載するように、特異的ＨｕＭａｂ　ＩｇＧを産生するハイブリドーマ由来のＨｕＭａｂをプロテインＡカラムクロマトグラフィによって精製し、特に興味深い８つの抗体（「ＨｕＭａｂ」）が単離された。ＨｕＭａｂである３Ｄ６－２Ｆ４、３Ｄ６－４Ｃ８、３Ｇ９－２Ｄ２、５Ａ８－１Ｆ１、２Ｄ３－１Ｆ５－２Ａ９（V_H領域）、３Ｃ７－３Ａ３、１Ｅ６－３Ｄ１０（V_H領域）、および５Ｃ３－２－３Ｆ６のV_HおよびV_Lコード領域を、対応するハイブリドーマ由来のＲＮＡを使用して同定した。ＲＮＡをｃＤＮＡに逆転写し、Ｖコード領域をＰＣＲによって増幅し、ＰＣＲ産物を配列決定した。以下は、ＨｕＭａｂのV_HおよびV_L領域の核酸配列およびアミノ酸配列である（アミノ酸配列の場合、相補性決定領域（ＣＤＲ）に下線を引いている）。

【０２１７】

【化１】

3D6-2F4 V_H **核酸配列**(VH3, **遺伝子座** 3-33; JH4) **(配列番号2)**:

atggagtttgggctgagctgggttttcctcgttgctcttttaagaggtgtccagtgtcaggtgcagctggtggagtctgggggag

gcgtggtccagcctgggaggtccctgagactctcctgtgcagcgtctggattcatcttcagtatctatggcatgcactgggtccg

ccaggctccaggcaaggggctggagtgggtggcagttatatggtatgatggaagtaataaatactatgcagactccgtgaagg

gccgattcaccatctccagagacaattccaagaacacgctgtatctgcaaatgaacagcctgagagccgaggacacggctgtg

tattactgtgcgagagctcctcactttgactactggggccagggaaccctggtcaccgtctcctcagctagc

3D6-2F4 V_H **アミノ酸配列(配列番号3)(シグナルペプチドを含む)**:

MEFGLSWVFLVALLRGVQCQVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFIFSIYGM

HWVRQAPGKGLEWVAVIWYDGSNKYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSL

RAEDTAVYYCARAPHFDYWGQGTLVTVSS

【０２１８】

【化２】

3D6-2F4 V_H「成熟」アミノ酸配列（配列番号４）（シグナルペプチドを除く）：

QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFIFSIYGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWY
DGSNKYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARAPHFDYW
GQGTLVTVSS

3D6-2F4 V_H CDR1（配列番号５）：IYGMH

3D6-2F4 V_H CDR2（配列番号６）：VIWYDGSNKYYADSVKG

3D6-2F4 V_H CDR3（配列番号７）：APHFDY

3D6-2F4 V_L 核酸配列（VK1, 遺伝子座 L15; JK2）（配列番号８）：

atgggatggagctgtatcatcctgttcctcgtggccacagcaaccggtgtccactccgacatccagatgacccagtctccatcct
cactgtctgcatctgttggagacagagtcaccatcacttgtcgggcgagtcagggtattagcagctggttagcctggtatcagca
gaaaccagagaaagcccctaagtccctgatctatgctgcatccagtttgcaaagtggggtcccatcaaggttcagcggcagtg
gatctgggacagatttcactctcaccatcagcagcctgcagcctgaagattttgcaacttattactgccaacagtataatagttacc
cgtacacttttggccaggggaccaagctggagatcaaacgtacg

3D6-2F4 V_L アミノ酸配列（配列番号９）（シグナルペプチドを含む）：

MDMRVLAQLLGLLLLCFPGARCDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSW
LAWYQQKPEKAPKSLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYY
CQQYNSYPYTFGQGTKLEIK

3D6-2F4 V_L「成熟」アミノ酸配列（配列番号１０）（シグナルペプチドを除く）：

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSWLAWYQQKPEKAPKSLIYAASSLQ
SGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYNSYPYTFGQGTKLEIK

3D6-2F4 V_L CDR1（配列番号１１）：RASQGISSWLA

3D6-2F4 V_L CDR2（配列番号１２）：AASSLQS

3D6-2F4 V_L CDR3（配列番号１３）：QQYNSYPYT

【０２１９】

【化３】

3D6-4C8 V_H 核酸配列 (VH3, 遺伝子座 3-33; JH4) (配列番号14) :

atggagtttgggctgagctgggttttcctcgttgctcttttaagaggtgtccagtgtcaggtgcagctggtggagtctgggggag
gcgtggtccagcctgggaggtccctgagactctcctgtgcagcgtctggattcatcttcagtatctatggcatgcactgggtccg
ccaggctccaggcaaggggctggagtgggtggcagttatatggtatgatggaagtaataaatactatgcagactccgtgaagg
gccgattcaccatctccagagacaattccaagaacacgctgtatctgcaaatgaacagcctgagagccgaggacacggctgtg
tattactgtgcgagagctcctcactttgactactggggccagggaaccctggtcaccgtctcctcagcctccaccaagggccca
tcggtcttcccccctggcac

3D6-4C8 V_H アミノ酸配列 (配列番号15) (シグナルペプチドを含む) :

MEFGLSWVFLVALLRGVQCQVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFIFSIYGM
HWVRQAPGKGLEWVAVIWYDGSNKYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSL
RAEDTAVYYCARAPHFDYWGQGTLVTVSS

3D6-4C8 V_H「成熟」アミノ酸配列 (配列番号16) (シグナルペプチドを除く) :

QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFIFSIYGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWY
DGSNKYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARAPHFDYW
GQGTLVTVSS

3D6-4C8 V_HCDR1 (配列番号17) : IYGMH

3D6-4C8 V_HCDR2 (配列番号18) : VIWYDGSNKYYADSVKG

3D6-4C8 V_HCDR3 (配列番号19) : APHFDY

3D6-4C8 V_L 核酸配列 (VK1, 遺伝子座 L4; JK4) (配列番号20) :

atggacatgagggtccccgctcagctcctggggcttctgctgctctggctcccaggtgccagatgtgccatccagttgacccag
tctccatcctccctgtctgcatctgtaggagacagagtcaccatcacttgccgggcaagtcagggcattagcagtgctttagcct
ggtatcagcagaaaccagggaaagctcctaagctcctgatctatgatgcctccagtttggaaagtggggtcccatcaaggttca
gcggcagtggatctgggacagatttcactctcaccatcagcagcctgcagcctgaagattttgcaacttattactgtcaacagttt
aatagttaccctctcactttcggcggagggaccaaggtggagatcaaa

【０２２０】

【化４】

3D6-4C8 V_L アミノ酸配列（配列番号21）（シグナルペプチドを含む）：

MDMRVPAQLLGLLLLWLPGARCAIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSAL
AWYQQKPGKAPKLLIYDASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC
QQFNSYPLTFGGGTKVEIK

3D6-4C8 V_L「成熟」アミノ酸配列（配列番号22）（シグナルペプチドを除く）：

AIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSALAWYQQKPGKAPKLLIYDASSLES
GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQFNSYPLTFGGGTKVEIK

3D6-4C8 V_L CDR1（配列番号23）：RASQGISSALA

3D6-4C8 V_L CDR2（配列番号24）：DASSLES

3D6-4C8 V_L CDR3（配列番号25）：QQFNSYPLT

3G9-2D2, V_H 核酸配列 (VH3, 遺伝子座 3-33; D未決定; JH4)（配列番号26）：

atggagtttgggctgagctgggttttcctcgttgctcttttaagaggtgtccagtgtcaggtgcagctggtggagtctgggggag
gcgtggtccagcctgggaggtccctgagactctcctgtgcagcgtctggattcaccttcagtaattatggcatgtactgggtccg
ccaggctccaggcaaggggctggagtgggtggcagttatatggtatgatggaagtaataaatactatgcagactccgtgaagg
gccgattcaccatctccagagacaattccaagaacacgctgtatctgcaaatgaacagcctgagagccgaggacacggctgtg
tattactgtgcgagagatctctggggatggtactttgactattggggccagggaaccctggtcaccgtctcctcagctagc

3G9-2D2, V_H アミノ酸配列（配列番号27）（シグナルペプチドを含む）：

MEFGLSWVFLVALLRGVQCQVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSNYGM
YWVRQAPGKGLEWVAVIWYDGSNKYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSL
RAEDTAVYYCARDLWGWYFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLA

3G9-2D2, V_H「成熟」アミノ酸配列（配列番号28）（シグナルペプチドを除く）：

QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSNYGMYWVRQAPGKGLEWVAVIW
YDGSNKYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDLWGWY
FDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLA

3G9-2D2, V_H CDR1（配列番号29）：NYGMY

【０２２１】

【化５】

3G9-2D2, V_H CDR2 (配列番号30) : VIWYDGSNKYYADSVKG

3G9-2D2, V_H CDR3 (配列番号31) : DLWGWYFDY

3G9-2D2, V_L 核酸配列 (VK3, 遺伝子座 L6; JK4) (配列番号32) :

atgggatggagctgtatcatcctgttcctcgtggccacagcaaccggtgtccactccgaaattgtgttgacacagtctccagcca
ccctgtctttgtctccaggggaaagagccaccctctcctgcagggccagtcagagtgttagcagctacttagcctggtaccaac
agaaacctggccaggctcccaggctcctcatctatgatgcatccaacagggccactggcatcccagccaggttcagtggcagt
gggtctgggacagacttcactctcaccatcagcagcctagagcctgaagattttgcagtttattactgtcagcagcgtcgcaact
ggccgctcactttcggcggagggaccaaggtggagatcaaacgtacg

3G9-2D2, V_L アミノ酸配列 (配列番号33) (シグナルペプチドを含む) :

MEAPAQLLFLLLLWLPDTTGEIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAW
YQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQ
RRNWPLTFGGGTKVEIK

3G9-2D2, V_L 「成熟」アミノ酸配列 (配列番号34) (シグナルペプチドを除く) :

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRA
TGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRRNWPLTFGGGTKVEIK

3G9-2D2, V_L CDR1 (配列番号35) : RASQSVSSYLA

3G9-2D2, V_L CDR2 (配列番号36) : DASNRAT

3G9-2D2, V_L CDR3 (配列番号37) : QQRRNWPLT

5A8-1F1, V_H 核酸配列 (VH3, 遺伝子座 3-33; JH2) (配列番号38) :

atggagtttgggctgacctgggttttcctcgttgctcttttaagaggtgtccagtgtcaggtgcagctggtggagtctgggggagg
cgtggtccagcctgggaggtccctgagactctcctgtgcagcgtctggattcaccttcagtacctatggcatgcactgggtccg
ccaggctccaggcaaggggctggagtgggtggcaattatatggtatgatggaggtaataaatactatgcagactccgtgaagg
gccgattcaccatctccagagacaattccaagaacacgctgtatctgcaaatgaacagcctgagagccgaggacacggctgtg
tattactgtgcgagagacttctactggtacttcgatctctggggccgtggcaccctggtcactgtctcctcagcctccaccaaggg
cccatcggtcttcccccctggcaagg

【０２２２】

【化６】

5A8-1F1, V_H アミノ酸配列（配列番号３９）（シグナルペプチドを含む）：

MEFGLTWVFLVALLRGVQCQVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSTYGM
HWVRQAPGKGLEWVAIIWYDGGNKYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSL
RAEDTAVYYCARDFYWYFDLWGRGTLVTVSSASTKGPSVFPLA

5A8-1F1, V_H「成熟」アミノ酸配列（配列番号４０）（シグナルペプチドを除く）：

QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSTYGMHWVRQAPGKGLEWVAIIW
YDGGNKYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDFYWYF
DLWGRGTLVTVSSASTKGPSVFPLA

5A8-1F1, V_H CDR1（配列番号４１）：TYGMH

5A8-1F1, V_H CDR2（配列番号４２）：IIWYDGGNKYYADSVKG

5A8-1F1, V_H CDR3（配列番号４３）：DFYWYFDL

5A8-1F1, V_L 核酸配列(VK3, 遺伝子座 L6; JK1)（配列番号４４）：

atggaagccccagctcagcttctcttcctcctgctactctggctcccagataccaccggagaaattgtgttgacacagtctccagc
caccctgtctttgtctccaggggaaagagccaccctctcctgcagggccagtcagagtgttagcagctacttagcctggtacca
acagaaacctggccaggctcccaggctcctcatctatgatgcatccaacagggccactggcatcccagccaggttcagtggca
gtgggtctgggacagacttcactctcaccatcagcagcctagagcctgaagattttgcagtttattactgtcagcagcgtaggac
gttcggccaagggaccaaggtggaaatcaaacga

5A8-1F1, V_L アミノ酸配列（配列番号４５）（シグナルペプチドを含む）：

MEAPAQLLFLLLLWLPDTTGEIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAW
YQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQ
RRTFGQGTKVEIK

【０２２３】

【化７】

5A8-1F1, V_L「成熟」アミノ酸配列（配列番号４６）（シグナルペプチドを除く）：

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRA
TGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRRTFGQGTKVEIK

5A8-1F1, V_L CDR1（配列番号４７）：RASQSVSSYLA

5A8-1F1, V_L CDR2（配列番号４８）：DASNRAT

5A8-1F1, V_L CDR3（配列番号４９）：QQRRT

3C7-3A3, V_H 核酸配列（VH3, 遺伝子座 3-33; JH2）（配列番号５０）：

atggagtttgggctgagctgggttttcctcgttgctcttttaagaggtgtccagtgtcaggtgcagctggtggagtctgggggag
gcgtggtccagcctgggaggtccctgagactctcctgtgcagcgtctggattcaccttcagtagctataacatgcactgggtcc
gccaggctccaggcaaggggctggagtgggtggcatttatatggtatgatggaagtaataaatactatggagactccgtgaag
ggccgattcaccatctccagagacaattccaaaaacacgctgtatctgcaaatgaacagcctgagagccgaggacacggctgt
gtattactgtgcgagagaagagctggggatcgggtggtacttcgatctctggggccgtggcaccctggtcactgtctcctcagc
ctccaccaagggcccatcggtcttccccctggcac

3C7-3A3, V_H アミノ酸配列（配列番号５１）（シグナルペプチドを含む）：

MEFGLSWVFLVALLRGVQCQVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYNM
HWVRQAPGKGLEWVAFIWYDGSNKYYGDSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSL
RAEDTAVYYCAREELGIGWYFDLWGRGTLVTVSSASTKGPSVFPLA

3C7-3A3, V_H「成熟」アミノ酸配列（配列番号５２）（シグナルペプチドを除く）：

QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYNMHWVRQAPGKGLEWVAFIW
YDGSNKYYGDSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREELGIGW
YFDLWGRGTLVTVSSASTKGPSVFPLA

3C7-3A3, V_H CDR1（配列番号５３）：SYNMH

3C7-3A3, V_H CDR2（配列番号５４）：FIWYDGSNKYYGDSVKG

【０２２４】

【化８】

3C7-3A3, V_H CDR3 (配列番号55) : EELGIGWYFDL

3C7-3A3, V_L 核酸配列 (VK3,遺伝子座 L6; JK1)(配列番号56) :

atggaagccccagctcagcttctcttcctcctgctactctggctcccagataccaccggagaaattgtgttgacacagtctccagc
caccctgtctttgtctccaggggaaagagccaccctctcctgcagggccagtcagagtgttagcagctacttagcctggtacca
acagaaacctggccaggctcccaggctcctcatctatgatgcatccaacagggccactggcatcccagccaggttcagtggca
gtgggtctgggacagacttcactctcaccatcagcagcctagagcctgaagattttgcagtttattactgtcagcagcgtaggac
gttcggccaagggaccaaggtggaaatcaaacgaactgtggctgcaccatctgtcttcatcttcccgccatctgatgagcagtt
gaaatctggaactgcctctgttgtgtgcctgc

3C7-3A3, V_L アミノ酸配列(配列番号57)(シグナルペプチドを含む) :

MEAPAQLLFLLLLWLPDTTGEIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAW
YQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQ
RRTFGQGTKVEIK

3C7-3A3, V_L「成熟」アミノ酸配列(配列番号58)(シグナルペプチドを除く) :

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRA
TGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRRTFGQGTKVEIK

3C7-3A3, V_L CDR1 (配列番号59) : RASQSVSSYLA

3C7-3A3, V_L CDR2 (配列番号60) : DASNRAT

3C7-3A3, V_L CDR3 (配列番号61) : QQRRT

2D3-1F5-2A9, V_H 核酸配列(VH3,遺伝子座 Orph-C16; JH3) (配列番号62) :

atggagtttgtgctgagctgggttctccttgttgctatattaaaaggtgtccagtgtgaggttcagctggtgcagtctgggggagg
cttggtacatcctgggggtccctgagactctcctgtgcaggctctggattcaccttcagtaactatgctatgcactgggttcgcc
aggctccaggaaaaggtctggagtgggtatcaactattggtactggtggtggcacaccctatgcagactccgtgaagggccgc
ttcaccatctccagagacaatgccaagaactccttgtatcttcaaatgaacagcctgagagccgaggacatggctgtgtattact
gtgcattaagtgcttttgatgtctggggccaagggacaatggtcaccgtctcttcagcctccaccaagggcccatcggtcttccc
cctggcac

【０２２５】

【化９】

2D3-1F5-2A9, V_H アミノ酸配列（配列番号６３）（シグナルペプチドを含む）：

MEFVLSWVLLVAILKGVQCEVQLVQSGGGLVHPGGSLRLSCAGSGFTFSNYAM
HWVRQAPGKGLEWVSTIGTGGGTPYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRA
EDMAVYYCALSAFDVWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLA

2D3-1F5-2A9, V_H「成熟」アミノ酸配列（配列番号６４）（シグナルペプチドを除く）：

EVQLVQSGGGLVHPGGSLRLSCAGSGFTFSNYAMHWVRQAPGKGLEWVSTIGT
GGGTPYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDMAVYYCALSAFDVWGQ
GTMVTVSSASTKGPSVFPLA

2D3-1F5-2A9, V_H CDR1（配列番号６５）：NYAMH

2D3-1F5-2A9, V_H CDR2（配列番号６６）：TIGTGGGTPYADSVKG

2D3-1F5-2A9, V_H CDR3（配列番号６７）：SAFDV

1E6-3D10 V_H 核酸配列 (VH3, 遺伝子座 Orph-HC16; JH4)（配列番号６８）：

Atggagtttgtgctgagctgggttttccttgttgctatattaaaaggtgtccagtgtgaggttcagctggtgcagtctgggggaggc
cttggtacatcctgggggtccctgagactctcctgtgcaggctctggattcaccttcagtagctatgctatgcactgggttcgcc
aggctccaggaaaaggtctggagtgggtatcagctattggtactggtggttacacatactatgtagactccgtgaagggccgatt
caccatctccagagacaatgccaagaagtccttgtatcttcaaatgaacagcctgagagccgaggacatggctgtgtattactgt
gcaagagagccgttttacgatattttgactggttattccccatactttgactactggggccagggaaccctggtcaccgtctcctca
gcctccaccaagggcccatcggtcttcccccctggcac

1E6-3D10 V_H アミノ酸配列（配列番号６９）（シグナルペプチドを含む）：

MEFVLSWVFLVAILKGVQCEVQLVQSGGGLVHPGGSLRLSCAGSGFTFSSYAM
HWVRQAPGKGLEWVSAIGTGGYTYYVDSVKGRFTISRDNAKKSLYLQMNSLR
AEDMAVYYCAREPFYDILTGYSPYFDYWGQGTLVTVSS

【０２２６】

【化１０】

1E6-3D10 V_H「成熟」アミノ酸配列（配列番号70）（シグナルペプチドを除く）：

EVQLVQSGGGLVHPGGSLRLSCAGSGFTFSSYAMHWVRQAPGKGLEWVSAIGT
GGYTYYVDSVKGRFTISRDNAKKSLYLQMNSLRAEDMAVYYCAREPFYDILTG
YSPYFDYWGQGTLVTVSS

1E6-3D10 V_HCDR1:（配列番号71）：SYAMH
1E6-3D10 V_HCDR2（配列番号72）：AIGTGGYTYYVDSVKG

1E6-3D10 V_HCDR3（配列番号73）：EPFYDILTGYSPYFDY

5C3-2-3F6 V_H核酸配列（VH3, 遺伝子座 3-33; JH2）（配列番号74）：
Atggagtttgggctgagctgggttttcctcgttgctcttttaagaggtgtccagtgtcaggtgcagctggtggagtctgggggag
gcgtggtccagcctgggaggtccctgagactctcctgtgcagcgtctggattcaccttcagtagctataacatgcactgggtcc
gccaggctccaggcaaggggctggagtgggtggcagttatatggtatgatggaagtaataaatactatggagactccgtgaag
ggccgattcaccatctccagagacaattccaagaacacgctgtatctgcaaatgaacagcctgagagccgaggacacggctgt
gtattactgtgcgagagaagagctggggatcgggtggtacttcgatctctggggccgtggcaccctggtcactgtctcctcagc
ctccaccaagggcccatcggtcttccccctggcac

5C3-2-3F6 V_Hアミノ酸配列（配列番号75）（シグナルペプチドを含む）：
MEFGLSWVFLVALLRGVQCQVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYNM
HWVRQAPGKGLEWVAVIWYDGSNKYYGDSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSL
RAEDTAVYYCAREELGIGWYFDLWGRGTLVTVSS

5C3-2-3F6 V_H「成熟」アミノ酸配列（配列番号76）（シグナルペプチドを除く）：

QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYNMHWVRQAPGKGLEWVAVIW
YDGSNKYYGDSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREELGIGW
YFDLWGRGTLVTVSS

5C3-2-3F6 V_HCDR1（配列番号77）：SYNMH

5C3-2-3F6 V_HCDR2（配列番号78）：VIWYDGSNKYYGDSVKG

【０２２７】

【化１１】

5C3-2-3F6 V_H CDR3 (配列番号79) : EELGIGWYFDL

5C3-2-3F6 VK V_L 核酸配列 (VK1, 遺伝子座 L18; JK5) (配列番号80) :

Atggacatgagggtccccgctcagctcctggggcttctgctgctctggctcccaggtgccagatgtgccatccagttgaccca
gtctccatcctccctgtctgcatctgtaggagacagagtcaccatcacttgccgggcaagtcagggcattagcagtgctttagcc
tggtatcagcagaaaccagggaaagctcctaagctcctgatctatgatgcctccagtttggaaagtggggtcccatcaaggttc
agcggcagtggatctgggacagatttcactctcaccatcagcagcctgcagcctgaagattttgcaacttattactgtcaacagtt
taatagttaccctcacttcggccaagggacacgactggagattaaacgaactgtggctgcaccatctgtcttcatcttcccgccat
ctgatgagcagttgaaatctggaactgcctctgttgtgtgcctgcaagggc

5C3-2-3F6 VK V_L アミノ酸配列 (配列番号81) (シグナルペプチドを含む) :

MDMRVPAQLLGLLLLWLPGARCAIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSAL
AWYQQKPGKAPKLLIYDASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC
QQFNSYPHFGQGTRLEIK

5C3-2-3F6 VK V_L 「成熟」アミノ酸配列 (配列番号82) (シグナルペプチドを除く) :

AIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSALAWYQQKPGKAPKLLIYDASSLES
GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQFNSYPHFGQGTRLEIK

5C3-2-3F6 V_L CDR1 (配列番号83) : RASQGISSALA

5C3-2-3F6 V_L CDR2 (配列番号84) : DASSLES

5C3-2-3F6 V_L CDR3 (配列番号85) : QQFNSYPH

5D12-5G1 VH 核酸配列 (VH3, 遺伝子座 3-33; JH2) (配列番号86) :

Atggagtttgggctgagctgggttttcctcgttgctcttttaagaggtgtccagtgtcaggtgcagctggtggagtctgggggag
gcgtggtccagcctgggaggtccctgagactctcctgtgcagcgtctggattcaccttcagtagctatggcatgcactgggtcc
gccaggctccaggcaaggggctggagtgggtggcagttatatggtatgatggaagtaataaatactatgcagactccgtgaag
ggccgattcaccatctccagagacaattccaagaacacgctgtatctgcaaatgaacagcctgagagccgaggacacggctgt
gtattactgtgcgagaggccccctcggtacttcgatctctggggccgtggcaccctggtcactgtctcctcagcctccaccaa
gggcccatcggtcttccccctggcac

【０２２８】

【化１２】

5D12-5G1 VH アミノ酸配列（配列番号87）（シグナルペプチドを含む）：

MEFGLSWVFLVALLRGVQCQVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGM
HWVRQAPGKGLEWVAVIWYDGSNKYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSL
RAEDTAVYYCARGPPRYFDLWGRGTLVTVSS

5D12-5G1 VH「成熟」アミノ酸配列（配列番号88）（シグナルペプチドを除く）：

QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVAVIW
YDGSNKYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGPPRYFD
LWGRGTLVTVSS

5D12-5G1 VH CDR1（配列番号89）：SYGMH

5D12-5G1 VH CDR2（配列番号90）：VIWYDGSNKYYADSVKG

5D12-5G1 VH CDR3（配列番号91）：GPPRYFDL

参照のために、提案した対応する生殖系列配列のアミノ酸配列（偏見なく割り当てた）を以下に示す。

【０２２９】

【化１３】

生殖系列L6（配列番号92）：

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRA
TGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRSNWP

生殖系列L4（配列番号93）：

AIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSALAWYQQKPGKAPKLLIYDASSLES
GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQFNSYP

【０２３０】

【化１４】

生殖系列L15（配列番号９４）：

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRARQGISSWLAWYQQKPEKAPKSLIYAASSLQ
SGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYNSYP

生殖系列V_H3-33（配列番号９５）：

QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVAVIW
YDGSNKYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR

生殖系列Orph-C16（配列番号９６）：

EVQLVQSGGGLVHPGGSLRLSCAGSGFTFSSYAMHWVRQAPGKGLEWV
SAIGTGGGTYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDMAVYYCAR

例示のみを目的として、提案した対応する生殖系列配列に対するV_L配列およびV_H配列の配列アラインメントを図５に示す。

【０２３１】

（実施例８）

３Ｇ９－βｈＣＧ　ＡＰＣターゲティングしたワクチンコンジュゲート

ＤＥＣ－２０５ターゲティングしたワクチンコンジュゲートを、上記実施例７由来のＨｕＭａｂ　３Ｇ９－２Ｄ２（カニクイザルＤＥＣ－２０５との交差反応性も決定されている）へのβｈＣＧ抗原の連結によって生成した。遺伝子融合による抗体重鎖への抗原の共有結合によって連結した。

【０２３２】

抗体３Ｇ９－２Ｄ２重鎖のＣＨ３ドメインおよび３Ｇ９－２Ｄ２軽鎖に融合したβｈＣＧコード配列を含む、ネオマイシンおよびジヒドロ葉酸レダクターゼ遺伝子を含むプラスミドを生成した。得られたプラスミド構築物を、標準的プロトコール（Ｑｉａｇｅｎ　Ｉｎｃ，Ｖａｌｅｎｃｉａ，ＣＡ）を使用してＣＨＯ細胞にトランスフェクションした。トランスフェクションした細胞を、抗生物質Ｇ４１８を含む培地中で選択した。選択後、細胞を限界希釈によってクローニングし、安定なクローン株を使用して、さらなる研究のための細胞バンクを生成した。３Ｇ９－βｈＣＧ構築物の発現を確認するために、還元条件下および非還元条件下にてＳＤＳ－ＰＡＧＥで泳動したタンパク質のウェスタンブロット分析を行った。この融合タンパク質は、推定分子量であり、且つ適切にアセンブリされていることが認められた（すなわち、重鎖融合物および軽鎖の両方を含む）。具体的には、ワクチンコンジュゲートおよび抗体のみを、変性条件を使用したＳＤＳ－ＰＡＧＥによって分析し、ウェスタンブロット分析によって検出した。次いで、ブロットを、ヤギ抗ヒトＩｇＧおよびβｈＣＧ　Ｃ末端ペプチドに特異的なｍＡｂ（ＵＳ　Ｂｉｏｌｏｇｉｃａｌｓ）を使用して個別に探索した。結果により、融合産物の適切なサイズおよび組成によって証明されるように、形質転換したＣＨＯ細胞が３Ｇ９－βｈＣＧワクチンコンジュゲートを特異的に発現したことが確認された。

【０２３３】

（実施例９）

３Ｇ９－βｈＣＧ　ＡＰＣターゲティングしたワクチンコンジュゲートを使用した抗原特異的活性

抗原提示可能な細胞はヒト起源であり、末梢血単核球（ＰＢＭＣ）、単球（ＴＨＰ－１）、Ｂリンパ芽球様細胞（Ｃ１Ｒ．Ａ２、１５１８Ｂ－ＬＣＬ）、および単球由来ＤＣの多岐にわたっている。全細胞は、フローサイトメトリーによって評価した場合にＤＥＣ－

２０５の細胞表面発現について陽性であった。

【０２３４】

ベクターｐｋ：３Ｇ９－ｈＣＧβをＣＨＯ細胞にトランスフェクションした。安定なクローンをＧ４１８を使用して選択し、その後にサブクローニングした。上清中の細胞によって産生された融合タンパク質（３Ｇ９－βｈＣＧワクチンコンジュゲート；実施例８）を回収し、プロテインＡカラムで精製した。

【０２３５】

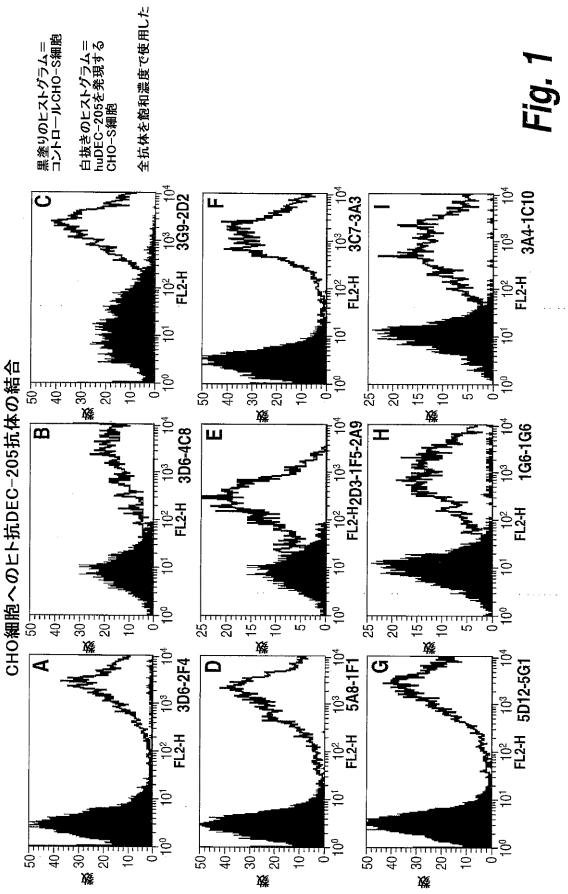
Ｔ細胞を、通常の健康なドナーのロイコパックから得た。３Ｇ９－ｈＣＧβでターゲティングした自己ＤＣでの２～３週間毎の刺激によって抗原特異的Ｔ細胞をｉｎ　ｖｉｔｒｏで生成し、ＣＤ８＋およびＣＤ４＋Ｔ細胞について富化した後、ＧｒＢまたはＩＦＮγＥＬＩＳｐｏｔアッセイ（ＭａｂＴｅｃｈ）によって種々のＡＰＣ（上記）を使用して抗原特異的活性について試験した。サイトカインＩＬ－７およびＩＬ－２を添加して、３～４日毎にエフェクターの増殖および活性を維持した。抗原特異的Ｔ細胞を、Ｍｉｌｔｅｎｙｉ－ＭＡＣＳＴ細胞増殖キットにて低用量のＩＬ－２の存在下で１０～１２日間増殖させた。ＣＤ４０Ｌ（Ａｌｅｘｉｓ　Ｂｉｏｃｈｅｍｉｃａｌｓ）を使用して、ＤＣの成熟を誘導した。図９Ａに示すように、ＣＤ８＋Ｔ細胞応答をＤＣおよび単球（ＴＨＰ－１）で達成し、Ｂリンパ芽球様細胞（図９Ｂ）で達成した。したがって、ＤＥＣ－２０５受容体を介したＢ細胞への抗原ターゲティングにより、ＭＨＣ－クラスＩ拘束Ｔ細胞が刺激された。

【０２３６】

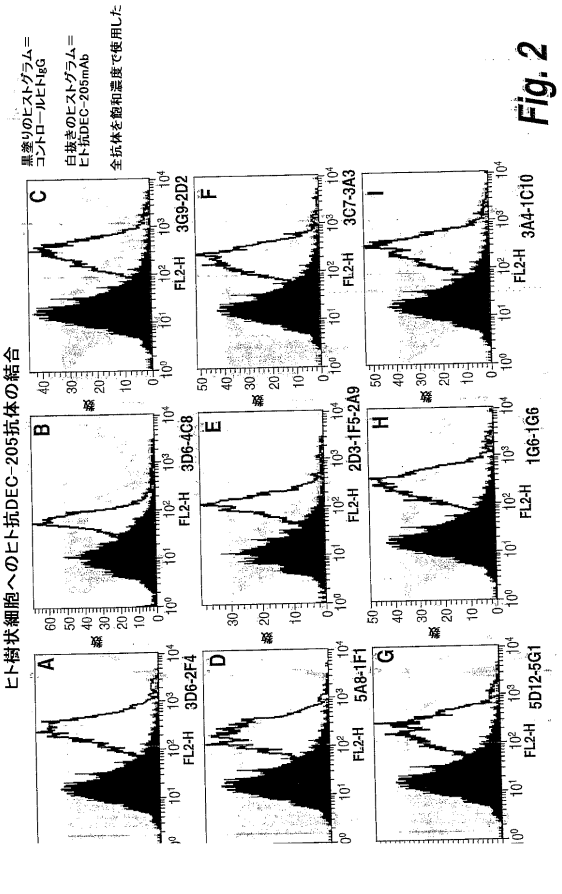
等価物

当業者は、日常的な実験のみを使用して、本明細書中に記載の本発明の特定の実施形態の多数の等価物を認識するか確認することができるであろう。かかる等価物は、以下の特許請求の範囲に含まれることが意図される。

【図１】



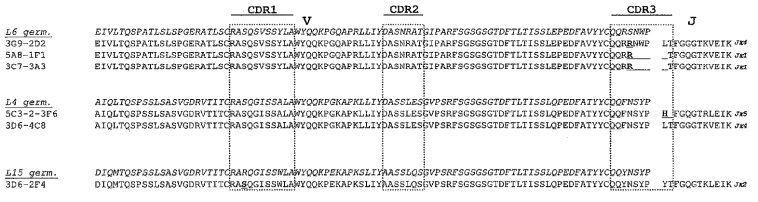
【図２】



【図５】

ヒトV$_H$およびV$_K$アラインメントおよび生殖系列の配列

V$_K$アラインメント



V$_H$ アラインメント

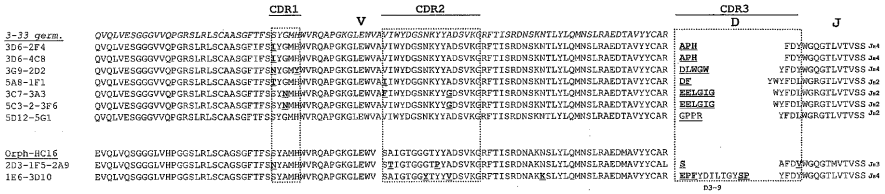


Fig. 5

【図３】

ELISAによるsDEC205へのヒト抗DEC205抗体の結合

全抗体を飽和濃度で使用した

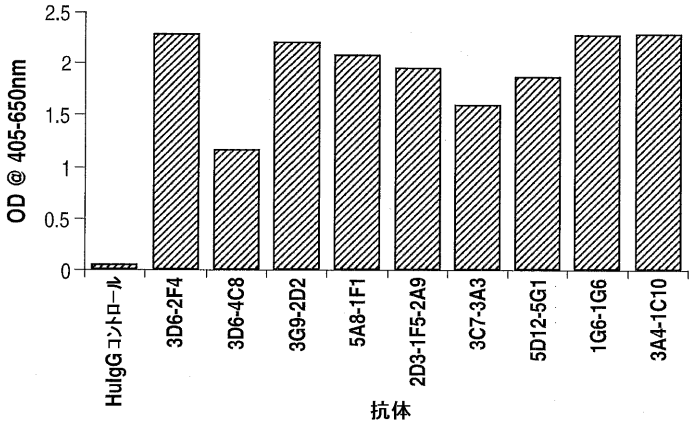


Fig. 3

【図６】

ヒトV$_H$ CDRコンセンサス配列

3D6-2F4 VH CDR1 (配列番号5): IYGMH
3D6-4C8 VH CDR1 (配列番号17): IYGMH
3G9-2D2 VH CDR1 (配列番号29): NYGMY
5A8-1F1 VH CDR1 (配列番号41): TYGMH
3C7-3A3, VH CDR1 (配列番号53): SYNMH
2D3-1F5-2A9, VH CDR1 (配列番号65): NYAMH
1E6-3D10 VH CDR1: (配列番号71): SYAMH
5C3-2-3F6 VH CDR1 (配列番号77): SYNMH
5D12-5G1 VH CDR1 (配列番号89): SYGMH

VH CDR1 コンセンサス (配列番号97): (I,N,T,S) Y (G,N,A) M (H,Y)

3D6-2F4 VH CDR2 (配列番号6): VIWYDGSNKYYADSVKG
3D6-4C8 VH CDR2 (配列番号18): VIWYDGSNKYYADSVKG
3G9-2D2, VH CDR2 (配列番号30): VIWYDGSNKYYADSVKG
5A8-1F1, VH CDR2 (配列番号42): IIWYDGGNKYYADSVKG
3C7-3A3, VH CDR2 (配列番号54): FIWYDGSNKYYGDSVKG
2D3-1F5-2A9, VH CDR2 (配列番号66): TIGTGGGTPYA-DSVKG
1E6-3D10 VH CDR2 (配列番号72): AIGTGGYTYYV-DSVKG
5C3-2-3F6 VH CDR2 (配列番号78): VIWYDGSNKYYGDSVKG
5D12-5G1 VH CDR2 (配列番号90): VIWYDGSNKYYADSVKG

VH CDR2 コンセンサス (配列番号98): (V,I,F,T,A) I (W,G) (Y,T) (D,G) G (S,G,Y) (N,T) (K,P) Y (Y,A,V) (A,G,-) D S V K G

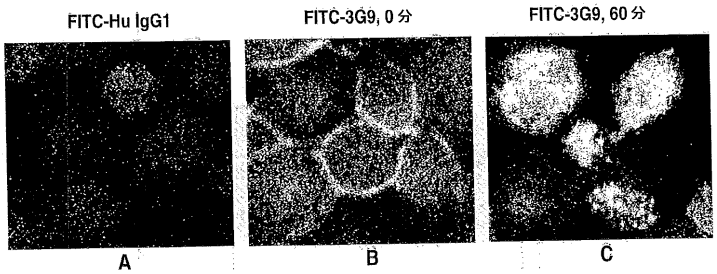
3D6-2F4 VH CDR3 (配列番号7): APHFDY
3D6-4C8 VH CDR3 (配列番号19): APHFDY
3G9-2D2, VH CDR3 (配列番号31): DLWGWYFDY
5A8-1F1, VH CDR3 (配列番号43): DFYWYFDL
3C7-3A3, VH CDR3 (配列番号55): EELGIGWYFDL
2D3-1F5-2A9, VH CDR3 (配列番号67): SAFDV
1E6-3D10 VH CDR3 (配列番号73): EPFYDILTGYSPYFDY
5C3-2-3F6 VH CDR3 (配列番号79): EELGIGWYFDL
5D12-5G1 VH CDR3 (配列番号91): GPPRYFDL

VH CDR3 (コア)コンセンサス (配列番号99): (A,G,Y,S,P,-) (P,W,S,R) (Y,A,H) F D (Y,L,V)
(ここで、「－」はその位置にアミノ酸残基が存在しないというオプションを示す)

Fig. 6

【図４】

樹状細胞におけるDec205mAbの結合および内在化



単球由来ヒトDCを、FITC-3G9-2D2またはFITC-ヒトIgG1にて氷上で30分間パルスした。次いで、細胞を37℃で表示の時間インキュベートして内在化させた。共焦点顕微鏡法によって画像を捕捉し、緑色染色によってFITC標識分子の存在を明らかにした。

Fig. 4

【図７】

ヒトVL CDRコンセンサス配列

3D6-2F4 VL CDR1 (	配列番号 11):	RASQGISSWLA
3D6-4C8 VL CDR1 (	配列番号 23):	RASQGISSALA
3G9-2D2, VL CDR1 (	配列番号 35):	RASQSVSSYLA
5A8-1F1, VL CDR1 (	配列番号 47):	RASQSVSSYLA
3C7-3A3, VL CDR1 (	配列番号 59):	RASQSVSSYLA
5C3-2-3F6 VL CDR1 (	配列番号 83):	RASQGISSALA
VL CDR1 コンセンサス (	配列番号 100):	**R A S Q (S,G) (I,V) S S (Y,W,A) L A**
3D6-2F4 VL CDR2 (	配列番号 12):	AASSLQS
3D6-4C8 VL CDR2 (	配列番号 24):	DASSLES
3G9-2D2, VL CDR2 (	配列番号 36):	DASNRAT
5A8-1F1, VL CDR2 (	配列番号 48):	DASNRAT
3C7-3A3, VL CDR2 (	配列番号 60):	DASNRAT
5C3-2-3F6 VL CDR2 (	配列番号 84):	DASSLES
VL CDR2 コンセンサス (	配列番号 101):	**(D,A) A S (N,S) (R,L) (A,Q,E) (T,S)**
3D6-2F4 VL CDR3 (	配列番号 13):	QQYNSYPYT
3D6-4C8 VL CDR3 (	配列番号 25):	QQFNSYPLT
3G9-2D2, VL CDR3 (	配列番号 37):	QQRRNWPLT
5A8-1F1, VL CDR3 (	配列番号 49):	QQRRT-----
3C7-3A3, VL CDR3 (	配列番号 61):	QQRRT-----
5C3-2-3F6 VL CDR3 (	配列番号 85):	QQFNSYPH-
VL CDR3 コンセンサス (	配列番号 102):	**Q Q (R,Y,F) (R,N) (T,S,N) (Y,W,-) (P,-) (Y,L,H,-) (T,-)**

(ここで、「-」はその位置にアミノ酸残基が存在しないというオプションを示す)

Fig. 7

【図８】

抗DEC-205/抗原融合の例
APCターゲティングしたワクチン構築物（略図）

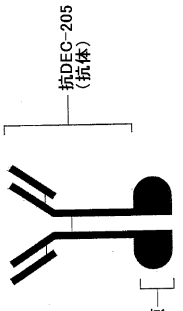


Fig. 8

【図９Ａ】

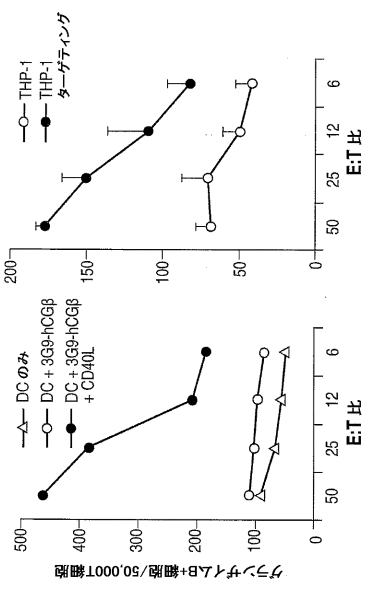


Fig. 9A

【図９Ｂ】

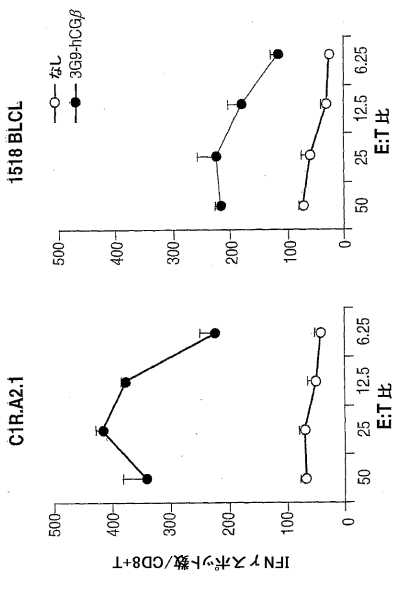


Fig. 9B

【配列表】
2015083010000001.app
【手続補正書】
【提出日】平成27年1月16日(2015.1.16)
【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】
単離ヒトモノクローナル抗体であって、該抗体が、ヒト樹状細胞および上皮細胞２０５受容体（ＤＥＣ－２０５）に結合し、以下の性質：
（ａ）表面プラズモン共鳴によって決定した場合に少なくとも$10^{8}M^{-1}$の親和定数でヒトＤＥＣ－２０５に結合すること；
（ｂ）ＤＥＣ－２０５を発現するヒト樹状細胞への結合後に内在化すること；
（ｃ）抗原に対するヒトＣＤ４＋Ｔ細胞応答を生成または増強すること；
（ｄ）抗原に対するヒトＣＴＬまたはＮＫＴ応答を生成または増強すること；
（ｅ）樹状細胞中の抗原プロセシング区画に局在すること、または
（ｆ）末梢$CD8^{+}$Ｔ細胞寛容を誘導すること
の少なくとも１つを示す、単離ヒトモノクローナル抗体。
【手続補正２】
【補正対象書類名】明細書
【補正対象項目名】００３２
【補正方法】変更
【補正の内容】
【００３２】
本発明の好ましい実施形態では、例えば以下が提供される：
（発明１）
単離ヒトモノクローナル抗体であって、該抗体が、ヒト樹状細胞および上皮細胞２０５受容体（ＤＥＣ－２０５）に結合し、以下の性質：
（ａ）表面プラズモン共鳴によって決定した場合に少なくとも$10^{8}M^{-1}$の親和定数でヒトＤＥＣ－２０５に結合すること；
（ｂ）ＤＥＣ－２０５を発現するヒト樹状細胞への結合後に内在化すること；
（ｃ）抗原に対するヒトＣＤ４＋Ｔ細胞応答を生成または増強すること；
（ｄ）抗原に対するヒトＣＴＬまたはＮＫＴ応答を生成または増強すること；
（ｅ）樹状細胞中の抗原プロセシング区画に局在すること、または
（ｆ）末梢$CD8^{+}$Ｔ細胞寛容を誘導すること
の少なくとも１つを示す、単離ヒトモノクローナル抗体。
（発明２）
前記ヒトＴ細胞応答が、ＭＨＣクラスＩ経路またはＭＨＣクラスＩＩ経路またはその両方のいずれかによって媒介される、発明１に記載の抗体。
（発明３）
ヒトＤＥＣ－２０５の細胞外ドメイン上に存在するエピトープに結合する単離ヒトモノクローナル抗体。
（発明４）
ヒトＤＥＣ－２０５に結合し、（ａ）ヒト生殖系列V_{H}３－３３遺伝子を使用し、（ｂ）配列番号９５と比較して配列番号２８、４、１６、４０、５２、７６、および８８のいずれか１つにアミノ酸置換のうちの少なくとも１つを含む重鎖可変領域を含む、単離モノクローナル抗体。

（発明５）
ヒトＤＥＣ－２０５に結合し、（ａ）ヒト生殖系列Ｏｒｐｈ－Ｃ１６遺伝子を使用し、（ｂ）配列番号９６と比較して配列番号６４および７０のいずれかにアミノ酸置換のうちの少なくとも１つを含む重鎖可変領域を含む、単離モノクローナル抗体。
（発明６）
前記抗体が、（ａ）ヒト生殖系列ＶＫ３－Ｌ６遺伝子を使用し、配列番号９２と比較して配列番号３４、４６、５８のいずれか１つにアミノ酸置換のうちの少なくとも１つを含み、（ｂ）ヒト生殖系列ＶＫ１－Ｌ４遺伝子を使用し、配列番号９３と比較して配列番号２２または８２にアミノ酸置換のうちの少なくとも１つを含み、（ｃ）ヒト生殖系列ＶＫ１－Ｌ１５遺伝子を使用し、配列番号９４と比較して配列番号１０にアミノ酸置換のうちの少なくとも１つを含む領域からなる群から選択される軽鎖可変領域をさらに含む、発明４または５に記載の抗体。
（発明７）
単離モノクローナル抗体であって、前記抗体は、ヒトＤＥＣ－２０５に結合し、
（ｉ）ヒト生殖系列V_H３－３３遺伝子を使用し、配列番号９５と比較して配列番号２８、４、１６、４０、５２、７６、および８８のいずれか１つにアミノ酸置換のうちの少なくとも１つを含むか、
（ｉｉ）ヒト生殖系列Ｏｒｐｈ－Ｃ１６遺伝子を使用し、配列番号９６と比較して配列番号６４および７０のいずれかにアミノ酸置換のうちの少なくとも１つを含む、重鎖可変領域を含み、
前記抗体は、
（ａ）ヒト生殖系列ＶＫ３－Ｌ６遺伝子を使用し、配列番号９２と比較して配列番号３４、４６、５８のいずれか１つにアミノ酸置換のうちの少なくとも１つを含むか、
（ｂ）ヒト生殖系列ＶＫ１－Ｌ４遺伝子を使用し、配列番号９３と比較して配列番号２２または８２にアミノ酸置換のうちの少なくとも１つを含むか、
（ｃ）ヒト生殖系列ＶＫ１－Ｌ１５遺伝子を使用し、配列番号９４と比較して配列番号１０にアミノ酸置換のうちの少なくとも１つを含む、軽鎖可変領域をさらに含む、単離モノクローナル抗体。
（発明８）
単離モノクローナル抗体であって、前記抗体は、ヒトＤＥＣ－２０５に結合し、配列番号２８、４、１６、４０、５２、６４、７０、７６、または８８およびその保存的配列修飾物からなる群から選択される重鎖可変領域ならびに配列番号３４、１０、２２、４６、５８、または８２およびその保存的配列修飾物からなる群から選択される軽鎖可変領域を含む、単離モノクローナル抗体。
（発明９）
ヒトＤＥＣ－２０５に結合する単離モノクローナル抗体であって、前記抗体は、
ＣＤＲ１配列、ＣＤＲ２配列、およびＣＤＲ３配列を含む重鎖可変領域ならびに
ＣＤＲ１配列、ＣＤＲ２配列、およびＣＤＲ３配列を含む軽鎖可変領域を含み、
前記重鎖可変領域ＣＤＲ３配列は、配列番号３１、７、１９、４３、５５、６７、７３、７９、９１、およびその保存的配列修飾物からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む、単離モノクローナル抗体。
（発明１０）
前記軽鎖可変領域ＣＤＲ３配列が、配列番号３７、１３、２５、４９、６１、８５、およびその保存的配列修飾物からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む、発明９に記載の抗体。
（発明１１）
前記重鎖可変領域ＣＤＲ２配列が、配列番号３０、６、１８、４２、５４、６６、７２、７８、９０、およびその保存的配列修飾物からなる群から選択されるアミノ酸配列を含み、前記軽鎖可変領域ＣＤＲ２配列が、配列番号３６、１２、２４、４８、６０、８４、およびその保存的配列修飾物からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む、発明１０に記

載の抗体。
（発明１２）
前記重鎖可変領域ＣＤＲ１配列が、配列番号２９、５、１７、４１、５３、６５、７１、７７、８９、およびその保存的配列修飾物からなる群から選択されるアミノ酸配列を含み、前記軽鎖可変領域ＣＤＲ１配列が、配列番号３５、１１、２３、４７、５９、８３、およびその保存的配列修飾物からなる群から選択される、発明１１に記載の抗体。
（発明１３）
前記保存的配列修飾物が保存的アミノ酸置換物である、発明９から１２のいずれかに記載の抗体。
（発明１４）
ヒトＤＥＣ－２０５に結合し、以下：
（ｉ）配列番号２９を含む重鎖可変領域ＣＤＲ１；
配列番号３０を含む重鎖可変領域ＣＤＲ２；
配列番号３１を含む重鎖可変領域ＣＤＲ３；
配列番号３５を含む軽鎖可変領域ＣＤＲ１；
配列番号３６を含む軽鎖可変領域ＣＤＲ２；
配列番号３７を含む軽鎖可変領域ＣＤＲ３；
またはその保存的配列修飾物；
（ｉｉ）配列番号１７を含む重鎖可変領域ＣＤＲ１；
配列番号１８を含む重鎖可変領域ＣＤＲ２；
配列番号１９を含む重鎖可変領域ＣＤＲ３；
配列番号２３を含む軽鎖可変領域ＣＤＲ１；
配列番号２４を含む軽鎖可変領域ＣＤＲ２；
配列番号２５を含む軽鎖可変領域ＣＤＲ３；
またはその保存的配列修飾物；
（ｉｉｉ）配列番号５を含む重鎖可変領域ＣＤＲ１；
配列番号６を含む重鎖可変領域ＣＤＲ２；
配列番号７を含む重鎖可変領域ＣＤＲ３；
配列番号１１を含む軽鎖可変領域ＣＤＲ１；
配列番号１２を含む軽鎖可変領域ＣＤＲ２；
配列番号１３を含む軽鎖可変領域ＣＤＲ３；
その保存的配列修飾物；
（ｉｖ）配列番号４１を含む重鎖可変領域ＣＤＲ１；
配列番号４２を含む重鎖可変領域ＣＤＲ２；
配列番号４３を含む重鎖可変領域ＣＤＲ３；
配列番号４７を含む軽鎖可変領域ＣＤＲ１；
配列番号４８を含む軽鎖可変領域ＣＤＲ２；
配列番号４９を含む軽鎖可変領域ＣＤＲ３；
またはその保存的配列修飾物；
（ｖ）配列番号５３を含む重鎖可変領域ＣＤＲ１；
配列番号５４を含む重鎖可変領域ＣＤＲ２；
配列番号５５を含む重鎖可変領域ＣＤＲ３；
配列番号５９を含む軽鎖可変領域ＣＤＲ１；
配列番号６０を含む軽鎖可変領域ＣＤＲ２；
配列番号６１を含む軽鎖可変領域ＣＤＲ３；
またはその保存的配列修飾物；および
（ｖｉｉｉ）配列番号７７を含む重鎖可変領域ＣＤＲ１；
配列番号７８を含む重鎖可変領域ＣＤＲ２；
配列番号７９を含む重鎖可変領域ＣＤＲ３；
配列番号８３を含む軽鎖可変領域ＣＤＲ１；

配列番号８４を含む軽鎖可変領域ＣＤＲ２；
配列番号８５を含む軽鎖可変領域ＣＤＲ３；
またはその保存的配列修飾物
からなる群から選択される重鎖および軽鎖可変領域ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、およびＣＤＲ３配列を含む、単離モノクローナル抗体。
（発明１５）
ヒトＤＥＣ－２０５に結合し、以下：
配列番号２９を含む重鎖可変領域ＣＤＲ１；
配列番号３０を含む重鎖可変領域ＣＤＲ２；
配列番号３１を含む重鎖可変領域ＣＤＲ３；
配列番号３５を含む軽鎖可変領域ＣＤＲ１；
配列番号３６を含む軽鎖可変領域ＣＤＲ２；および
配列番号３７を含む軽鎖可変領域ＣＤＲ３
を含む、単離モノクローナル抗体。
（発明１６）
ヒトＤＥＣ－２０５に結合する単離モノクローナル抗体であって、前記抗体が、
ＣＤＲ１配列、ＣＤＲ２配列、およびＣＤＲ３配列を含む重鎖可変領域；ならびに
ＣＤＲ１配列、ＣＤＲ２配列、およびＣＤＲ３配列を含む軽鎖可変領域を含み、
前記重鎖可変領域ＣＤＲ３配列が、コンセンサス配列：（Ａ，Ｇ，Ｙ，Ｓ，Ｐ，－）（Ｐ，Ｗ，Ｓ，Ｒ）（Ｙ，Ａ，Ｈ）ＦＤ（Ｙ，Ｌ，Ｖ）（配列番号９９）から選択されるアミノ酸配列を含む（ここで、「－」はその共通の位置にアミノ酸残基が存在しないというオプションを示す）、単離モノクローナル抗体。
（発明１７）
前記軽鎖可変領域ＣＤＲ３配列が、コンセンサス配列：ＱＱ（Ｒ，Ｙ，Ｆ）（Ｒ，Ｎ）（Ｔ，Ｓ，Ｎ）（Ｙ，Ｗ，－）（Ｐ，－）（Ｙ，Ｌ，Ｈ，－）（Ｔ，－）（配列番号１０２）から選択されるアミノ酸配列を含む（ここで、「－」はその共通の位置にアミノ酸残基が存在しないというオプションを示す）、発明１６に記載の抗体。
（発明１８）
前記重鎖可変領域ＣＤＲ２配列が、コンセンサス配列：（Ｖ，Ｉ，Ｆ，Ｔ，Ａ）Ｉ（Ｗ，Ｇ）（Ｙ，Ｔ）（Ｄ，Ｇ）Ｇ（Ｓ，Ｇ，Ｙ）（Ｎ，Ｔ）（Ｋ，Ｐ）Ｙ（Ｙ，Ａ，Ｖ）（Ａ，Ｇ，－）ＤＳＶＫＧ（配列番号９８）（ここで、「－」はその共通の位置にアミノ酸残基が存在しないというオプションを示す）から選択されるアミノ酸配列を含み、前記軽鎖可変領域ＣＤＲ２配列が、コンセンサス配列：（Ｄ，Ａ）ＡＳ（Ｎ，Ｓ）（Ｒ，Ｌ）（Ａ，Ｑ，Ｅ）（Ｔ，Ｓ）（配列番号１０１）から選択されるアミノ酸配列を含む、発明１７に記載の抗体。
（発明１９）
前記重鎖可変領域ＣＤＲ１配列が、コンセンサス配列：（Ｉ，Ｎ，Ｔ，Ｓ）Ｙ（Ｇ，Ｎ，Ａ）Ｍ（Ｈ，Ｙ）（配列番号９７）から選択されるアミノ酸配列を含み、前記軽鎖可変領域ＣＤＲ１配列が、コンセンサス配列：ＲＡＳＱ（Ｓ，Ｇ）（Ｉ，Ｖ）ＳＳ（Ｙ，Ｗ，Ａ）ＬＡ（配列番号１００）から選択されるアミノ酸配列を含む、発明１８に記載の抗体。
（発明２０）
ヒトＤＥＣ－２０５に結合し、以下：
（ｉ）コンセンサス配列：（Ｉ，Ｎ，Ｔ，Ｓ）Ｙ（Ｇ，Ｎ，Ａ）Ｍ（Ｈ，Ｙ）（配列番号９７）から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域ＣＤＲ１；
（ｉｉ）コンセンサス配列：（Ｖ，Ｉ，Ｆ，Ｔ，Ａ）Ｉ（Ｗ，Ｇ）（Ｙ，Ｔ）（Ｄ，Ｇ）Ｇ（Ｓ，Ｇ，Ｙ）（Ｎ，Ｔ）（Ｋ，Ｐ）Ｙ（Ｙ，Ａ，Ｖ）（Ａ，Ｇ，－）ＤＳＶＫＧ（配列番号９８）から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域ＣＤＲ２；
（ｉｉｉ）コンセンサス配列：（Ａ，Ｇ，Ｙ，Ｓ，Ｐ，－）（Ｐ，Ｗ，Ｓ，Ｒ）（Ｙ，Ａ，Ｈ）ＦＤ（Ｙ，Ｌ，Ｖ）（配列番号９９）から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域ＣＤＲ３；

（ｉｖ）コンセンサス配列：ＲＡＳＱ（Ｓ，Ｇ）（Ｉ，Ｖ）ＳＳ（Ｙ，Ｗ，Ａ）ＬＡ（配列番号１００）から選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域ＣＤＲ１；
（ｖ）コンセンサス配列：（Ｄ，Ａ）ＡＳ（Ｎ，Ｓ）（Ｒ，Ｌ）（Ａ，Ｑ，Ｅ）（Ｔ，Ｓ）（配列番号１０１）から選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域ＣＤＲ２；
（ｖｉ）コンセンサス配列：ＱＱ（Ｒ，Ｙ，Ｆ）（Ｒ，Ｎ）（Ｔ，Ｓ，Ｎ）（Ｙ，Ｗ，－）（Ｐ，－）（Ｙ，Ｌ，Ｈ，－）（Ｔ，－）（配列番号１０２）から選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域ＣＤＲ３（ここで、「－」はその共通の位置にアミノ酸残基が存在しないというオプションを示す）
からなる群から選択される重鎖および軽鎖可変領域ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、およびＣＤＲ３配列を含む、単離モノクローナル抗体。
（発明２１）
ヒトＤＥＣ－２０５に結合し、配列番号２８、４、１６、４０、５２、６４、７０、７６、８８、およびその保存的配列修飾物からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域を含む、単離モノクローナル抗体。
（発明２２）
配列番号３４、１０、２２、４６、５８、８２、およびその保存的配列修飾物からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域をさらに含む、発明２１に記載の抗体。
（発明２３）
ヒトＤＥＣ－２０５に結合し、以下：
（ａ）それぞれ配列番号２８および３４ならびにその保存的配列修飾物；
（ｂ）それぞれ配列番号１６および２２ならびにその保存的配列修飾物；
（ｃ）それぞれ配列番号４および１０ならびにその保存的配列修飾物；
（ｄ）それぞれ配列番号４０および４６ならびにその保存的配列修飾物；
（ｅ）それぞれ配列番号５２および５８ならびにその保存的配列修飾物；
（ｄ）それぞれ配列番号７６および８２ならびにその保存的配列修飾物
からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域および軽鎖可変領域を含む、単離モノクローナル抗体。
（発明２４）
ヒトＤＥＣ－２０５に結合し、アミノ酸配列である配列番号２８を含む重鎖可変領域およびアミノ酸配列である配列番号３４を含む軽鎖可変領域を含む、単離モノクローナル抗体。
（発明２５）
ヒトＤＥＣ－２０５に結合し、配列番号２８、４、１６、４０、５２、６４、７０、７６、および８８からなる群から選択されるアミノ酸配列と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域を含む、単離モノクローナル抗体。
（発明２６）
配列番号３４、１０、２２、４６、５８、および８２からなる群から選択されるアミノ酸配列と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域をさらに含む、発明２５に記載の抗体。
（発明２７）
ヒトＤＥＣ－２０５に結合し、以下：
（ａ）それぞれ配列番号２８および３４；
（ｂ）それぞれ配列番号１６および２２；
（ｃ）それぞれ配列番号４および１０
（ｄ）それぞれ配列番号４０および４６；
（ｅ）それぞれ配列番号５２および５８；および
（ｆ）それぞれ配列番号７６および８２
からなる群から選択されるアミノ酸配列と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域および軽鎖可変領域を含む、単離モノクローナル抗体。
（発明２８）

ヒトＤＥＣ－２０５に結合し、アミノ酸配列である配列番号２８と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域およびアミノ酸配列である配列番号３４と少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を含む、単離モノクローナル抗体。

（発明２９）

ヒトＤＥＣ－２０５に結合し、配列番号２８、４、１６、４０、５２、６４、７０、７６、および８８からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域または前記重鎖可変領域のフレームワーク領域中の少なくとも１つのアミノ酸残基が対応する生殖系列残基と置換された配列を含む、単離モノクローナル抗体。

（発明３０）

配列番号３４、１０、２２、４６、５８、および８２からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域または前記軽鎖可変領域のフレームワーク領域中の少なくとも１つのアミノ酸残基が対応する生殖系列残基と置換された配列をさらに含む、発明２９に記載の抗体。

（発明３１）

前記少なくとも１つの置換アミノ酸残基が、抗原と直接非共有結合する残基；ＣＤＲに隣接する残基；ＣＤＲ相互作用残基；ＶＬ－ＶＨ界面に関与する残基、カノニカル残基、バーニアゾーン残基、および鎖間充填残基からなる群から選択される、発明２９または３０に記載の抗体。

（発明３２）

前記抗体が、ＩｇＧ１抗体、ＩｇＧ２抗体、ＩｇＧ３抗体、ＩｇＧ４抗体、ＩｇＭ抗体、ＩｇＡ１抗体、ＩｇＡ２抗体、ＩｇＡｓｅｃ抗体、ＩｇＤ抗体、およびＩｇＥ抗体からなる群から選択される、発明１～３１のいずれかに記載の抗体。

（発明３３）

発明１から２または４から３１のいずれかに記載の抗体と結合を競合する単離抗体。

（発明３４）

ヒトＤＥＣ－２０５に結合する単離モノクローナル抗体であって、前記抗体が、以下：

（ａ）それぞれ配列番号２６および３２；

（ｂ）それぞれ配列番号１４および２０；

（ｃ）それぞれ配列番号２および８；

（ｄ）それぞれ配列番号３８および４４；

（ｅ）それぞれ配列番号５０および５６；および

（ｆ）それぞれ配列番号７４および８０；

または（ａ）～（ｆ）の核酸配列と少なくとも９０％同一である核酸配列からなる群から選択される核酸配列によってコードされる重鎖可変領域および軽鎖可変領域を含む、単離モノクローナル抗体。

（発明３５）

前記抗体がヒト抗体である、発明１～３４のいずれかに記載の抗体。

（発明３６）

ヒトＤＥＣ－２０５に結合する抗体の軽鎖、重鎖、または軽鎖と重鎖の両方の可変領域をコードするヌクレオチド配列を含む発現ベクター。

（発明３７）

発明１から３４のいずれかに記載のヒトＤＥＣ－２０５に結合する抗体の軽鎖、重鎖、または軽鎖と重鎖の両方の可変領域をコードするヌクレオチド配列を含む発現ベクター。

（発明３８）

発明３６または３７に記載の発現ベクターで形質転換された細胞。

（発明３９）

抗原に連結した発明１から３４のいずれかに記載の抗体を含む分子抱合体。

（発明４０）

前記抗原が病原体成分を含む、発明３９に記載の分子抱合体。

（発明４１）
前記抗原が、腫瘍抗原、アレルゲン、または自己抗原を含む、発明３９に記載の分子抱合体。
（発明４２）
前記抗原が腫瘍抗原を含む、発明３９に記載の分子抱合体。
（発明４３）
前記腫瘍抗原が、βｈＣＧ、ｇｐ１００またはＰｍｅｌ１７、ＨＥＲ２／ｎｅｕ、ＷＴ１、メソセリン、ＣＥＡ、ｇｐ１００、ＭＡＲＴ１、ＴＲＰ－２、ＮＹ－ＢＲ－１、ＮＹ－ＣＯ－５８、ＭＮ（ｇｐ２５０）、イディオタイプ、チロシナーゼ、テロメラーゼ、ＳＳＸ２、ＭＵＣ－１、ＭＡＲＴ１、メラン－Ａ、ＮＹ－ＥＳＯ－１、ＭＡＧＥ－１、ＭＡＧＥ－３、ＭＡＧＥ－Ａ３、および高分子量黒色腫関連抗原（ＨＭＷ－ＭＡＡ）からなる群から選択される、発明４２に記載の分子抱合体。
（発明４４）
前記腫瘍抗原が、βｈＣＧ、ＮＹ－ＥＳＯ－１、メソセリン、またはＨＥＲ２／ｎｅｕ由来の配列である、発明４３に記載の分子抱合体。
（発明４５）
前記抗原が、ＨＩＶ、ＨＰＶ、ＨＢＶ、またはＨＣＶに由来する、発明４０に記載の分子抱合体。
（発明４６）
治療薬をさらに含む、発明４０から４５のいずれかに記載の分子抱合体。
（発明４７）
前記治療薬が、細胞毒性薬、免疫抑制薬、および化学療法薬からなる群から選択される、発明４６に記載の分子抱合体。
（発明４８）
抗体と異なる結合特異性を有する分子に連結した発明１から３４のいずれかに記載の抗体を含む二重特異性分子。
（発明４９）
発明１から３４に記載の抗体、発明３９から４７のいずれかに記載の分子抱合体、または発明４８に記載の二重特異性分子、および薬学的に有効なキャリアを含む組成物。
（発明５０）
治療薬をさらに含む、発明４９に記載の組成物。
（発明５１）
前記薬剤が免疫抑制薬である、発明５０に記載の組成物。
（発明５２）
前記治療薬が抗体である、発明５０に記載の組成物。
（発明５３）
ＴＬＲ３アゴニスト、ＴＬＲ４アゴニスト、ＴＬＲ５アゴニスト、ＴＬＲ６アゴニスト、ＴＬＲ７アゴニスト、ＬＴＲ８アゴニスト、またはＴＬＲ９アゴニストから選択される免疫賦活薬を含む、発明４９に記載の組成物。
（発明５４）
発明４９に記載の組成物を被験体に投与する工程を含む、被験体におけるＤＥＣ－２０５への抗原のターゲティング方法。
（発明５５）
発明４９に記載の組成物を被験体に投与する工程を含む、被験体における抗原に対する免疫応答を誘導または増強する方法。
（発明５６）
前記免疫応答が、ＭＨＣ－Ｉ抱合体および／またはＭＨＣ－ＩＩ抱合体の成分としての抗原の提示を含む、発明５５に記載の方法。
（発明５７）
抗原に対するＴ細胞媒介性応答を誘導または増強する様式で、抗原がプロセシングされて

Ｔ細胞に提示されるように、発明４９に記載の組成物を被験体に投与する工程を含む、抗原に対する被験体のＴ細胞媒介性免疫応答を誘導または増強する方法。
（発明５８）
前記Ｔ細胞応答がＣＤ４＋Ｔ細胞およびＣＤ８＋Ｔ細胞の両方によって媒介される、発明５７に記載の方法。
（発明５９）
前記Ｔ細胞応答が細胞傷害性Ｔ細胞またはヘルパーＴ細胞によって媒介される、発明５７に記載の方法。
（発明６０）
発明４９に記載の組成物を被験体に投与する工程を含む、被験体を免疫化する方法。
（発明６１）
前記組成物を樹状細胞によるサイトカイン放出を誘導するのに十分な量で投与する、発明６０に記載の方法。
（発明６２）
有効量の発明４８に記載の組成物を被験体に投与する工程を含む、被験体の障害を治療する方法。
（発明６３）
前記障害が、結腸癌、胃癌、乳癌、肺癌、卵巣癌、脳癌、腎癌、肝臓癌、食道癌、黒色腫、リンパ腫、前立腺癌腫、膵臓癌腫、膀胱癌腫、線維肉腫、横紋筋肉腫、肥満細胞腫、乳腺腺癌、白血病、およびリウマチ様線維芽細胞腫からなる障害の群から選択される、発明６２に記載の方法。
（発明６４）
前記障害が、細菌、真菌、ウイルス、および寄生虫の感染症からなる障害の群から選択される、発明６２に記載の方法。
（発明６５）
前記障害が、アレルギー、移植片拒絶、および自己免疫疾患からなる障害の群から選択される、発明６２に記載の方法。
（発明６６）
前記障害が、関節リウマチ、多発性硬化症、１型真性糖尿病、重症筋無力症、悪性貧血、アジソン病、シェーグレン症候群、乾癬、エリテマトーデス、クローン病、潰瘍性大腸炎、強皮症、レイノー症候群、ライター症候群、橋本甲状腺炎、またはグレーブス病からなる自己免疫障害の群から選択される、発明６２に記載の方法。
（発明６７）
生物学的サンプル中のＤＥＣ－２０５の有無を検出する方法であって、
（ａ）生物学的サンプルを発明１から３４のいずれかに記載の抗体と接触させる工程であって、前記抗体が検出可能な物質で標識されている、接触させる工程、および
（ｂ）ＤＥＣ－２０５に結合した前記抗体を検出し、それにより、前記生物学的サンプル中のＤＥＣ－２０５の有無を検出する工程
を含む、方法。
（発明６８）
Ｂ細胞がＭＨＣクラスＩ拘束性Ｔ細胞を刺激するように抗原に連結したＢ細胞の表面上の受容体に結合する分子を含む分子抱合体を被験体に投与する工程を含む、被験体におけるＢ細胞に抗原をターゲティングする方法。
（発明６９）
Ｂ細胞がＭＨＣクラスＩ拘束性Ｔ細胞を刺激するように抗原に連結したＢ細胞の表面上の受容体に結合する分子を含む分子抱合体を被験体に投与する工程を含む、被験体における抗原に対する免疫応答を誘導または増強する方法。
（発明７０）
Ｂ細胞がＭＨＣクラスＩ拘束性Ｔ細胞を刺激するように抗原に連結したＢ細胞の表面上の受容体に結合する分子を含む分子抱合体を被験体に投与する工程を含む、抗原に対して被

験体を免疫化する方法。
（発明７１）
前記受容体がＣ型レクチン受容体である、発明６８から７０のいずれかに記載の方法。
（発明７２）
前記受容体がＤＥＣ－２０５である、発明６８から７１のいずれかに記載の方法。
（発明７３）
前記受容体に結合する分子が抗体である、発明６８から７２のいずれかに記載の方法。
（発明７４）
前記抗体が抗ＤＥＣ－２０５抗体である、発明７３に記載の方法。
（発明７５）
前記Ｂ細胞が共刺激経路を介して活性化される、発明６８から７４のいずれかに記載の方法。
（発明７６）
前記抗原がＢ細胞によってＭＨＣクラスＩ分子上に提示される、発明６８から７５のいずれかに記載の方法。
（発明７７）
前記抗原がＨＬＡ－Ａ２．１分子上に提示される、発明６８から７６のいずれかに記載の方法。
（発明７８）
前記抗原が腫瘍抗原である、発明６８から７７のいずれかに記載の方法。
（発明７９）
前記腫瘍抗原がβｈＣＧである、発明７８に記載の方法。
（発明８０）
前記抗原が病原体である、発明６８から７７のいずれかに記載の方法。
（発明８１）
障害が、結腸癌、胃癌、乳癌、肺癌、卵巣癌、脳癌、腎癌、肝臓癌、食道癌、黒色腫、リンパ腫、前立腺癌腫、膵臓癌腫、膀胱癌腫、線維肉腫、横紋筋肉腫、肥満細胞腫、乳腺腺癌、白血病、およびリウマチ様線維芽細胞腫からなる障害の群から選択される、被験体の障害を治療するための発明７８に記載の方法。
（発明８２）
前記障害が、細菌、真菌、ウイルス、または寄生虫の感染症からなる障害の群から選択される、被験体の障害の治療のための発明８０に記載の方法。
（発明８３）
発明１から３のいずれかに記載の抗体によって結合したエピトープに結合する単離ヒト抗体または単離ヒト化抗体。
（発明８４）
発明４から３１のいずれかに記載の抗体によって結合したエピトープに結合する単離抗体。

本発明の他の特徴および利点は、以下の詳細な説明および特許請求の範囲から明らかであろう。

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	
C07K 16/46	*(2006.01)*	C07K	16/46		
A61K 39/395	*(2006.01)*	A61K	39/395	N	
A61K 39/00	*(2006.01)*	A61K	39/00	H	
A61K 39/21	*(2006.01)*	A61K	39/21		
A61K 39/12	*(2006.01)*	A61K	39/12		
A61K 39/29	*(2006.01)*	A61K	39/29		
A61K 45/00	*(2006.01)*	A61K	45/00		
A61P 35/00	*(2006.01)*	A61P	35/00		
A61P 1/04	*(2006.01)*	A61P	1/04		
A61P 15/00	*(2006.01)*	A61P	15/00		
A61P 11/00	*(2006.01)*	A61P	11/00		
A61P 25/00	*(2006.01)*	A61P	25/00		
A61P 13/12	*(2006.01)*	A61P	13/12		
A61P 1/16	*(2006.01)*	A61P	1/16		
A61P 17/00	*(2006.01)*	A61P	17/00		
A61P 35/02	*(2006.01)*	A61P	35/02		
A61P 13/08	*(2006.01)*	A61P	13/08		
A61P 1/18	*(2006.01)*	A61P	1/18		
A61P 13/10	*(2006.01)*	A61P	13/10		
A61P 21/00	*(2006.01)*	A61P	21/00		
A61P 31/04	*(2006.01)*	A61P	31/04		
A61P 31/10	*(2006.01)*	A61P	31/10		
A61P 31/12	*(2006.01)*	A61P	31/12		
A61P 33/00	*(2006.01)*	A61P	33/00		
A61P 37/08	*(2006.01)*	A61P	37/08		
A61P 37/06	*(2006.01)*	A61P	37/06		
A61P 29/00	*(2006.01)*	A61P	29/00	101	
A61P 3/10	*(2006.01)*	A61P	3/10		
A61P 21/04	*(2006.01)*	A61P	21/04		
A61P 7/06	*(2006.01)*	A61P	7/06		
A61P 17/06	*(2006.01)*	A61P	17/06		
A61P 5/00	*(2006.01)*	A61P	5/00		
G01N 33/53	*(2006.01)*	G01N	33/53	D	
C12P 21/08	*(2006.01)*	C12P	21/08		

(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　100114889
弁理士　五十嵐　義弘
(74)代理人　100121072
弁理士　川本　和弥
(72)発明者　ケラー，　ティボアー
アメリカ合衆国　ペンシルベニア　１８９４２，　オッツビル，　パーク　ロード　３０
(72)発明者　ヒ，　リーツェン
アメリカ合衆国　ペンシルベニア　１８１０４，　アレンタウン，　リッジビュー　ドライブ　１６７５
(72)発明者　ラマクリシュナ，　ベンキー
アメリカ合衆国　ペンシルベニア　１８０７７－９５６５，　リーゲルズビル，　シェアーズ　ヒル　ロード　９１５
(72)発明者　ビテール，　ローラ　エー.
アメリカ合衆国　ペンシルベニア　１８９０１，　ドイルズタウン，　ミローズ　レーン　４１９４

【外国語明細書】
2015083010000001.pdf
2015083010000002.pdf
2015083010000003.pdf
2015083010000004.pdf