

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号

特表2025-509285

(P2025-509285A)

(43)公表日 令和7年4月11日(2025.4.11)

(51)国際特許分類		F I		テーマコード (参考)	
C 0 7 K	16/10 (2006.01)	C 0 7 K	16/10	Z N A	4 B 0 6 4
C 0 7 K	16/46 (2006.01)	C 0 7 K	16/46		4 B 0 6 5
C 1 2 N	15/13 (2006.01)	C 1 2 N	15/13		4 C 0 8 4
C 1 2 N	15/63 (2006.01)	C 1 2 N	15/63	Z	4 C 0 8 5
C 1 2 N	1/15 (2006.01)	C 1 2 N	1/15		4 C 0 8 7
		審査請求	未請求	予備審査請求	未請求 (全108頁) 最終頁に続く
(21)出願番号	特願2024-553392(P2024-553392)		(71)出願人	500182460	
(86)(22)出願日	令和5年3月6日(2023.3.6)			ユニバーシティ・オブ・ジョージア・リ	
(85)翻訳文提出日	令和6年11月5日(2024.11.5)			サーチ・ファウンデーション・インコー	
(86)国際出願番号	PCT/US2023/063801			ポレイテッド	
(87)国際公開番号	WO2023/172881			アメリカ合衆国 ジョージア 3 0 6 0 2	
(87)国際公開日	令和5年9月14日(2023.9.14)			, アセンズ, エス. ジャクソン スト	
(31)優先権主張番号	63/317,384			リート 2 1 0, テレル ホール 1 1 0	
(32)優先日	令和4年3月7日(2022.3.7)		(74)代理人	100078282	
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)			弁理士 山本 秀策	
(81)指定国・地域	AP(BW,CV,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ		(74)代理人	100113413	
	,NA,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),			弁理士 森下 夏樹	
	EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(		(74)代理人	100181674	
	AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,			弁理士 飯田 貴敏	
	FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV		(74)代理人	100181641	
	最終頁に続く			弁理士 石川 大輔	
				最終頁に続く	

(54)【発明の名称】 h M P V 抗体およびそれらの使用

(57)【要約】

ヒトメタニューモウイルス (hMPV) Fタンパク質に特異的に結合し、hMPVを中和する抗体および抗原結合性断片が開示される。これらの抗体をコードする核酸、ベクターおよび宿主細胞もまた提供される。開示される抗体、抗原結合性断片、核酸およびベクターは、例えば、hMPV感染を阻害するためまたはhMPV感染を検出するために使用され得る。ヒトメタニューモウイルス (hMPV) は、世界中で小児における罹患率および入院の主要原因であるが、hMPV疾患の予防および処置のために現在利用可能なワクチンも治療薬も存在しない。本発明はこの課題を解決する手段を提供する。

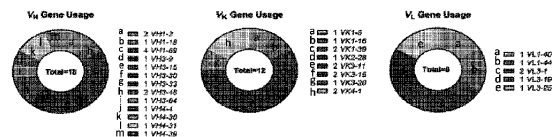


FIG. 1A

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

- a) それぞれ配列番号 4 1 および 4 5 (MPV 4 6 7) ;
- b) それぞれ配列番号 9 および 1 3 (MPV 4 1 4) ;
- c) それぞれ配列番号 1 7 および 2 1 (MPV 4 5 4) ;
- d) それぞれ配列番号 2 5 および 2 9 (MPV 4 5 6) ;
- e) それぞれ配列番号 3 3 および 3 7 (MPV 4 6 4) ;
- f) それぞれ配列番号 1 および 5 (MPV 8 6) ;
- g) それぞれ配列番号 4 9 および 5 3 (MPV 4 7 7) ;
- h) それぞれ配列番号 5 7 および 6 1 (MPV 4 7 8) ;
- i) それぞれ配列番号 6 5 および 6 9 (MPV 4 8 1) ;
- j) それぞれ配列番号 7 3 および 7 7 (MPV 4 8 2) ;
- k) それぞれ配列番号 8 1 および 8 5 (MPV 4 8 3) ;
- l) それぞれ配列番号 8 9 および 9 3 (MPV 4 8 5) ;
- m) それぞれ配列番号 9 7 および 1 0 1 (MPV 4 8 6) ;
- n) それぞれ配列番号 1 0 5 および 1 0 9 (MPV 4 8 7) ;
- o) それぞれ配列番号 1 1 3 および 1 1 7 (MPV 4 8 8) ;
- p) それぞれ配列番号 1 2 1 および 1 2 5 (MPV 4 8 9) ;
- q) それぞれ配列番号 1 2 9 および 1 3 3 (MPV 4 9 1) ; または
- r) それぞれ配列番号 1 3 7 および 1 4 1 (MPV 5 0 3) ;

10

20

として示される V_H および V_L の重鎖相補性決定領域 (HCDR) 1、HCDR 2 および HCDR 3 ならびに軽鎖相補性決定領域 (LCDR) 1、LCDR 2 および LCDR 3 を含む重鎖可変 (V_H) 領域および軽鎖可変領域 (V_L) を含む、単離されたモノクローナル抗体またはその抗原結合性断片であって、前記モノクローナル抗体が、ヒトメタニューモウイルス (hMPV) Fタンパク質に特異的に結合し、hMPV を中和する、単離されたモノクローナル抗体またはその抗原結合性断片。

【請求項 2】

前記 HCDR 1、前記 HCDR 2、前記 HCDR 3、前記 LCDR 1、前記 LCDR 2 および前記 LCDR 3 が、

- a) それぞれ配列番号 4 2、4 3、4 4、4 6、4 7 (GEN) および 4 8 ;
- b) それぞれ配列番号 1 0、1 1、1 2、1 4、1 5 (GAS) および 1 6 ;
- c) それぞれ配列番号 1 8、1 9、2 0、2 2、2 3 (VAS) および 2 4 ;
- d) それぞれ配列番号 2 6、2 7、2 8、3 0、3 1 (KTS) および 3 2 ;
- e) それぞれ配列番号 3 4、3 5、3 6、3 8、3 9 (QDN) および 4 0 ;
- f) それぞれ配列番号 2、3、4、6、7 および 8 ;
- g) それぞれ配列番号 5 0、5 1、5 2、5 4、5 5 (DNS) および 5 6 ;
- h) それぞれ配列番号 5 8、5 9、6 0、6 2、6 3 (WAS) および 6 4 ;
- i) それぞれ配列番号 6 6、6 7、6 8、7 0、7 1 (GAS) および 7 2 ;
- j) それぞれ配列番号 7 4、7 5、7 6、7 8、7 9 (KDK) および 8 0 ;
- k) それぞれ配列番号 8 2、8 3、8 4、8 6、8 7 (AAS) および 8 8 ;
- l) それぞれ配列番号 9 0、9 1、9 2、9 4、9 5 (QDT) および 9 6 ;
- m) それぞれ配列番号 9 8、9 9、1 0 0、1 0 2、1 0 3 (SDN) および 1 0 4 ;
- n) それぞれ配列番号 1 0 6、1 0 7、1 0 8、1 1 0、1 1 1 (DAS) および 1 1 2 ;
- o) それぞれ配列番号 1 1 4、1 1 5、1 1 6、1 1 8、1 1 9 (WAS) および 1 2 0 ;
- p) それぞれ配列番号 1 2 2、1 2 3、1 2 4、1 2 6、1 2 7 および 1 2 8 ;
- q) それぞれ配列番号 1 3 0、1 3 1、1 3 2、1 3 4、1 3 5 (RGS) および 1 3 6 ; または
- r) それぞれ配列番号 1 3 8、1 3 9、1 4 0、1 4 2、1 4 3 (GAS) および 1 4

30

40

50

4

として示されるアミノ酸配列を含む、請求項 1 に記載の単離されたモノクローナル抗体または抗原結合性断片。

【請求項 3】

前記 V_H および前記 V_L が、

- a) それぞれ配列番号 4 1 および 4 5 ;
- b) それぞれ配列番号 9 および 1 3 ;
- c) それぞれ配列番号 1 7 および 2 1 ;
- d) それぞれ配列番号 2 5 および 2 9 ;
- e) それぞれ配列番号 3 3 および 3 7 ;
- f) それぞれ配列番号 1 および 5 ;
- g) それぞれ配列番号 4 9 および 5 3 ;
- h) それぞれ配列番号 5 7 および 6 1 ;
- i) それぞれ配列番号 6 5 および 6 9 ;
- j) それぞれ配列番号 7 3 および 7 7 ;
- k) それぞれ配列番号 8 1 および 8 5 ;
- l) それぞれ配列番号 8 9 および 9 3 ;
- m) それぞれ配列番号 9 7 および 1 0 1 ;
- n) それぞれ配列番号 1 0 5 および 1 0 9 ;
- o) それぞれ配列番号 1 1 3 および 1 1 7 ;
- p) それぞれ配列番号 1 2 1 および 1 2 5 ;
- q) それぞれ配列番号 1 2 9 および 1 3 3 ; または
- r) それぞれ配列番号 1 3 7 および 1 4 1

10

20

として示されるアミノ酸配列と少なくとも 90 % 同一なアミノ酸配列を含む、請求項 1 または請求項 2 に記載の単離されたモノクローナル抗体または抗原結合性断片。

【請求項 4】

ヒトフレームワーク領域を含む、請求項 1 から 3 のいずれか一項に記載の単離されたモノクローナル抗体または抗原結合性断片。

【請求項 5】

前記 V_H および前記 V_L が、

- a) それぞれ配列番号 4 1 および 4 5 ;
- b) それぞれ配列番号 9 および 1 3 ;
- c) それぞれ配列番号 1 7 および 2 1 ;
- d) それぞれ配列番号 2 5 および 2 9 ;
- e) それぞれ配列番号 3 3 および 3 7 ;
- f) それぞれ配列番号 1 および 5 ;
- g) それぞれ配列番号 4 9 および 5 3 ;
- h) それぞれ配列番号 5 7 および 6 1 ;
- i) それぞれ配列番号 6 5 および 6 9 ;
- j) それぞれ配列番号 7 3 および 7 7 ;
- k) それぞれ配列番号 8 1 および 8 5 ;
- l) それぞれ配列番号 8 9 および 9 3 ;
- m) それぞれ配列番号 9 7 および 1 0 1 ;
- n) それぞれ配列番号 1 0 5 および 1 0 9 ;
- o) それぞれ配列番号 1 1 3 および 1 1 7 ;
- p) それぞれ配列番号 1 2 1 および 1 2 5 ;
- q) それぞれ配列番号 1 2 9 および 1 3 3 ; または
- r) それぞれ配列番号 1 3 7 および 1 4 1

30

40

として示されるアミノ酸配列を含む、請求項 1 から 4 のいずれか一項に記載の単離されたモノクローナル抗体または抗原結合性断片。

50

【請求項 6】

ヒト定常ドメインを含む、請求項 1 から 5 のいずれか一項に記載の単離されたモノクローナル抗体。

【請求項 7】

ヒト抗体である、請求項 1 から 6 のいずれか一項に記載の単離されたモノクローナル抗体。

【請求項 8】

I g G である、請求項 1 から 7 のいずれか一項に記載の単離されたモノクローナル抗体。

【請求項 9】

前記抗体の半減期を増加させる改変を含む組換え定常ドメインを含む、請求項 1 から 8 のいずれか一項に記載の単離されたモノクローナル抗体。

【請求項 10】

前記改変が、新生児 F c 受容体への結合を増加させる、請求項 9 に記載の単離されたモノクローナル抗体。

【請求項 11】

前記抗体が、グループ A およびグループ B の h M P V を中和する、請求項 1 から 10 のいずれか一項に記載の単離されたモノクローナル抗体または抗原結合性断片。

【請求項 12】

前記抗体が、融合後 F タンパク質よりも高い親和性で融合前 F タンパク質に結合する、請求項 1 から 11 のいずれか一項に記載の単離されたモノクローナル抗体または抗原結合性断片。

【請求項 13】

請求項 1 から 5 または 11 から 12 のいずれか一項に記載の単離されたモノクローナル抗原結合性断片。

【請求項 14】

F v、F a b、F (a b ')₂、s c F V または s c F V₂ 断片である、請求項 13 に記載の単離されたモノクローナル抗原結合性断片。

【請求項 15】

エフェクター分子または検出可能なマーカーにコンジュゲートされた、請求項 1 から 12 のいずれか一項に記載の単離されたモノクローナル抗体または請求項 13 もしくは請求項 14 に記載の抗原結合性断片。

【請求項 16】

請求項 1 から 12 のいずれか一項に記載のモノクローナル抗体または請求項 13 もしくは請求項 14 に記載の抗原結合性断片を含む二特異性抗体。

【請求項 17】

請求項 1 から 12 のいずれか一項に記載のモノクローナル抗体または請求項 13 もしくは請求項 14 のいずれか一項に記載の抗原結合性断片または前記モノクローナル抗体もしくは抗原結合性断片の V_H もしくは V_L をコードする、単離された核酸分子。

【請求項 18】

c D N A 配列である、請求項 17 に記載の核酸分子。

【請求項 19】

プロモーターに作動可能に連結された、請求項 17 または請求項 18 に記載の核酸分子。

【請求項 20】

請求項 17 から 19 のいずれかに記載の核酸分子を含むベクター。

【請求項 21】

請求項 17 から 20 のいずれか一項に記載の核酸分子またはベクターを含む宿主細胞。

【請求項 22】

請求項 1 から 12 のいずれか一項に記載のモノクローナル抗体、請求項 13 もしくは 1

10

20

30

40

50

4 に記載の抗原結合性断片または前記モノクローナル抗体もしくは抗原結合性断片をコードする核酸分子もしくはベクターの有効量；

薬学的に許容される担体

を含む、hMPV 感染を阻害する際の使用のための医薬組成物。

【請求項 23】

hMPV F タンパク質に特異的に結合するモノクローナル抗体または抗原結合性断片を産生する方法であって、

宿主細胞において、請求項 1 から 12 のいずれか一項に記載のモノクローナル抗体、請求項 13 もしくは請求項 14 に記載の抗原結合性断片または請求項 16 に記載の二特異性抗体をコードする 1 つまたは複数の核酸分子を発現させるステップ；および

10

前記抗体または抗原結合性断片を精製するステップを含む、方法。

【請求項 24】

ヒト対象由来の生物学的試料中の hMPV の存在を検出する方法であって、

前記生物学的試料を、請求項 1 から 12 または 15 のいずれか一項に記載のモノクローナル抗体、請求項 13 から 15 のいずれか一項に記載の抗原結合性断片または請求項 16 に記載の二特異性抗体の有効量と、免疫複合体を形成するのに十分な条件下で接触させるステップ；および

前記生物学的試料中の前記免疫複合体の存在を検出するステップであって、前記生物学的試料中の前記免疫複合体の前記存在が、前記試料中の前記 hMPV の存在を示す、ステップ

20

を含む、方法。

【請求項 25】

前記生物学的試料中の前記免疫複合体の前記存在を検出する前記ステップを検出することが、前記対象が hMPV 感染を有していることを示す、請求項 26 に記載の方法。

【請求項 26】

対象において hMPV 感染を阻害する方法であって、請求項 1 から 12 のいずれか一項に記載のモノクローナル抗体、請求項 13 もしくは 14 に記載の抗原結合性断片、請求項 15 に記載の二特異性抗体、前記モノクローナル抗体、抗原結合性断片もしくは二特異性抗体をコードする核酸分子、前記核酸分子を含むベクター、または請求項 22 に記載の医薬組成物の有効量を前記対象に投与するステップを含み、前記対象が、hMPV 感染のリスクを有しているまたはリスク状態にある、方法。

30

【請求項 27】

対象において hMPV 感染を阻害するためまたは生物学的試料中の hMPV の存在を検出するための、請求項 1 から 12 のいずれか一項に記載のモノクローナル抗体、請求項 13 もしくは 14 に記載の抗原結合性断片、請求項 15 に記載の二特異性抗体、前記モノクローナル抗体、抗原結合性断片もしくは二特異性抗体をコードする核酸分子、前記核酸分子を含むベクター、または請求項 22 に記載の医薬組成物の使用。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

40

【0001】

関連出願への相互参照

これは、参照により本明細書に組み込まれる、2022 年 3 月 7 日出願の米国仮出願第 63 / 317, 384 号に基づく利益を主張する。

【0002】

政府支援の陳述

本発明は、National Institutes of Health からの助成金番号 R01 AI143865 および 1K01 OD026569 の下で政府の支援によりなされた。米国政府は、本発明において特定の権利を有する。

【0003】

50

開示の分野

本発明は、メタニューモウイルス、特に、ヒトメタニューモウイルス F タンパク質に特異的に結合するモノクローナル抗体およびその抗原結合性断片の分野に関する。

【0004】

電子的配列表に対する言及

電子的配列表 (8618-108103-02 SEQUENCE LISTING. xml; サイズ: 122, 880 バイト; 作成日: 2023 年 2 月 20 日) の内容は、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【背景技術】

【0005】

背景

ヒトメタニューモウイルス (hMPV) は、小児および高齢者における呼吸器疾患の主要原因である (Panda, et al., Int. J. Infect. Dis. 25, 45-52 (2014); Falsey et al., J. Infect. Dis. 187, 785-790 (2003); van den Hoogen et al., J. Infect. Dis. 188, 1571-1577 (2003); Madhi et al., Clin. Infect. Dis. 37, 1705-1710 (2003); Haas et al.; Viruses 5, 87-110 (2013))。オランダで気道感染を有する小児から収集された試料において 2001 年に最初に同定されてから (van den Hoogen et al. Nat. Med. 7, 719-724 (2001))、hMPV の臨床的特色は、呼吸器多核体ウイルス (RSV) のものと類似しており、それには、入院を必要とし得る中～上部気道感染が含まれる (Akhras et al., Infect. Dis. Rep. 2, e12 (2010))。重症疾患は、免疫無防備状態の患者、例えば、肺移植 (Larcher et al., J. Hear. Lung Transpl. 24, 1891-1901 (2005))、造血幹細胞移植 (Cane et al., Bone Marrow Transplant. 31, 309-310 (2003); Englund et al., Ann. Intern. Med. 144, 344-349 (2013); Dokos et al., Transpl. Infect. Dis. 15, 97-101 (2013); Shah, et al., Cancer Lett. 379, 100-106 (2016)) を受けている患者、ならびに HIV (Klein et al., J. Infect. Dis. 201, 297-301 (2010)) および COPD (Kan-o et al., J. Infect. Dis. 215, 1536-1545 (2018)) を有して生きている患者において生じ得る。パリビズマブ (Group and Im, Pediatrics 102, 531-537 (1998)) が特定の高リスク乳児群において長年にわたって使用されてきた RSV とは対照的に、hMPV 感染のために利用可能な承認されたワクチンも具体的な処置も存在しない。

【0006】

血清学的研究により、ほぼ全ての小児が、5 歳までに hMPV について血清陽性であることが示されている (Edwards et al. N. Engl. J. Med. 368, 633-643 (2013))。hMPV は、小疎水性 (SH)、結合 (G) および融合 (F) タンパク質の 3 つの表面糖タンパク質を有する。これらのうち、hMPV F タンパク質は、中和抗体の唯一の標的であり (Ulbrandt et al., J. Gen. Virol. 89, 3113-3118 (2008))、これは、RSV G タンパク質および RSV F タンパク質の両方が中和抗体を惹起する RSV とは異なっている (Tripp et al., J. Virol. 92, 1-8 (2017))。hMPV に対して保護する認可されたワクチンは存在しないが、生弱毒化ウイルス、組換えウイルス、ベクターワクチンおよび組換え表面タンパク質が含まれるいくつかの候補が、動物モデルにおいて試験されている (Shafagati and Williams, F1000 Res. 7, 135 (2018))。生弱毒化 hMPV ワクチン (NCT01255410)、およびより最近では、パラインフルエンザウイルス 3 と組み合わせた mRNA ベースのワクチン (NCT03392389、NCT04144348) が含まれる限定的なワクチン候補が、臨床試験に進んでいる。ホルマリン不活性化された RSV で観察されたワクチン増強された疾患 (Killikelly et al. Sci. Rep. 6, 34108 (2016); Kim et al. Am. J. Epidemiol. 89, 422-434 (1969); Kapikian et al., Am. J. Epidemiol. 89, 405-421 (1969)) と同様に、ホルマリン不活性化された hM

10

20

30

40

50

PVを使用するワクチンは、マウス、コットラットおよびマカクにおいて、ウイルス感染後に増強された疾患を生じる (Hamelin et al., J. Gen. Virol. 88, 3391-3400 (2007); Yim et al. Vaccine 25, 5034-5040 (2007))。したがって、hMPVを標的とする他の治療薬がいまだに必要とされている。

【先行技術文献】

【非特許文献】

【0007】

【非特許文献1】Panda, et al., Int. J. Infect. Dis. 25, 45-52 (2014)

【非特許文献2】Falsey et al., J. Infect. Dis. 187, 785-790 (2003)

【非特許文献3】van den Hoogen et al., J. Infect. Dis. 188, 1571-1577 (2003) 10

【非特許文献4】Madhi et al., Clin. Infect. Dis. 37, 1705-1710 (2003)

【非特許文献5】Haas et al.; Viruses 5, 87-110 (2013)

【非特許文献6】van den Hoogen et al. Nat. Med. 7, 719-724 (2001)

【非特許文献7】Akhras et al., Infect. Dis. Rep. 2, e12 (2010)

【非特許文献8】Larcher et al., J. Hear. Lung Transpl. 24, 1891-1901 (2005) 1

【非特許文献9】Cane et al., Bone Marrow Transplant. 31, 309-310 (2003)

【非特許文献10】Englund et al., Ann. Intern. Med. 144, 344-349 (2013)

【非特許文献11】Dokos et al., Transpl. Infect. Dis. 15, 97-101 (2013) 20

【非特許文献12】Shah, et al., Cancer Lett. 379, 100-106 (2016)

【非特許文献13】Klein et al., J. Infect. Dis. 201, 297-301 (2010)

【非特許文献14】Kan-o et al., J. Infect. Dis. 215, 1536-1545 (2018)

【非特許文献15】Group and Im, Pediatrics 102, 531-537 (1998)

【非特許文献16】Edwards et al. N. Engl. J. Med. 368, 633-643 (2013)

【非特許文献17】Ulbrandt et al., J. Gen. Virol. 89, 3113-3118 (2008)

【非特許文献18】Tripp et al., J. Virol. 92, 1-8 (2017)

【非特許文献19】Shafagati and Williams, F1000Res. 7, 135 (2018)

【非特許文献20】Killikelly et al. Sci. Rep. 6, 34108 (2016)

【非特許文献21】Kim et al. Am. J. Epidemiol. 89, 422-434 (1969) 30

【非特許文献22】Kapikian et al., Am. J. Epidemiol. 89, 405-421 (1969)

【非特許文献23】Hamelin et al., J. Gen. Virol. 88, 3391-3400 (2007)

【非特許文献24】Yim et al. Vaccine 25, 5034-5040 (2007)

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【0008】

本開示の概要

a) それぞれ配列番号41および55;

b) それぞれ配列番号9および13;

c) それぞれ配列番号17および21;

d) それぞれ配列番号25および29;

e) それぞれ配列番号33および37;

f) それぞれ配列番号1および5;

g) それぞれ配列番号49および53;

h) それぞれ配列番号57および61;

i) それぞれ配列番号65および69;

j) それぞれ配列番号73および77;

k) それぞれ配列番号81および85;

l) それぞれ配列番号89および93;

m) それぞれ配列番号97および101;

40

50

- n) それぞれ配列番号 105 および 109 ;
- o) それぞれ配列番号 113 および 117 ;
- p) それぞれ配列番号 121 および 125 ;
- q) それぞれ配列番号 129 および 133 ; または
- r) それぞれ配列番号 137 および 141 ;

として示される V_H および V_L の重鎖相補性決定領域 (HCDR) 1、HCDR 2 および HCDR 3 ならびに軽鎖相補性決定領域 (LCDR) 1、LCDR 2 および LCDR 3 を含む重鎖可変 (V_H) 領域および軽鎖可変領域 (V_L) を含む、単離されたモノクローナル抗体またはその抗原結合性断片であって、モノクローナル抗体が、ヒトメタニューモウイルス (hMPV) F タンパク質に特異的に結合し、hMPV を中和する、単離されたモノクローナル抗体またはその抗原結合性断片が、開示される。具体的な非限定的な例では、CDR は、Kabat、Chothia または IMGT 番号付けスキームを使用して同定され得る。

10

【0009】

一部の実施形態では、HCDR 1、HCDR 2、HCDR 3、LCDR 1、LCDR 2 および LCDR 3 が、

- a) それぞれ配列番号 42、43、44、46、47 および 48 ;
- b) それぞれ配列番号 10、11、12、14、15 および 16 ;
- c) それぞれ配列番号 18、19、20、22、23 および 24 ;
- d) それぞれ配列番号 26、27、28、30、31 および 32 ;
- e) それぞれ配列番号 34、35、36、38、39 および 40 ;
- f) それぞれ配列番号 2、3、4、6、7 および 8 ;
- g) それぞれ配列番号 50、51、52、54、55 および 56 ;
- h) それぞれ配列番号 58、59、60、62、63 および 64 ;
- i) それぞれ配列番号 66、67、68、70、71 および 72 ;
- j) それぞれ配列番号 74、75、76、78、79 および 80 ;
- k) それぞれ配列番号 82、83、84、86、87 および 88 ;
- l) それぞれ配列番号 90、91、92、94、95 および 96 ;
- m) それぞれ配列番号 98、99、100、102、103 および 104 ;
- n) それぞれ配列番号 106、107、108、110、111 および 112 ;
- o) それぞれ配列番号 114、115、116、118、119 および 120 ;
- p) それぞれ配列番号 122、123、124、126、127 および 128 ;
- q) それぞれ配列番号 130、131、132、134、135 および 136 ; または
- r) それぞれ配列番号 138、139、140、142、143 および 144

20

として示されるアミノ酸配列を含む、単離されたモノクローナル抗体またはその抗原結合性断片が開示される。

30

【0010】

一部の実施形態では、抗体または抗原結合性断片は、エフェクター分子または検出可能なマーカーにコンジュゲートされる。

【0011】

抗体または抗原結合性断片を含む二特異性抗体もまた開示される。

40

【0012】

さらなる実施形態では、抗体、抗原結合性断片、または抗体もしくは抗原結合性断片の V_H もしくは V_L をコードする核酸およびベクター。

【0013】

より多くの実施形態では、抗体、抗原結合性断片、核酸分子またはベクターの有効量と薬学的に許容される担体とを含む、hMPV 感染を阻害する際の使用のための医薬組成物が開示される。

【0014】

さらなる実施形態では、hMPV F タンパク質に特異的に結合する抗体または抗原結

50

合性断片を産生する方法が開示される。

【0015】

一部の実施形態では、ヒト対象由来の生物学的試料中のhMPVの存在を検出するための方法もまた開示される。

【0016】

追加の実施形態では、対象においてhMPV感染を阻害するための方法であって、抗体、抗原結合性断片、核酸分子、ベクターまたは医薬組成物の有効量を対象に投与するステップを含み、対象が、hMPV感染のリスクを有しているまたはリスク状態にある、方法が開示される。

【0017】

本発明の上述のおよび他の特色および利点は、添付の図面を参照して進む、いくつかの実施形態の以下の詳細な説明からより明らかになる。

【図面の簡単な説明】

【0018】

【図1A】単離されたmAbの配列決定基。(A)重、カッパおよびラムダ鎖遺伝子の使用法が、単離されたmAbのパネルからの全てのそれぞれの遺伝子の割合として示される。(B)重鎖および軽鎖についての接合部のアミノ酸長さが示される。(C)予測された生殖系列配列に対するV遺伝子のパーセント同一性が示される。

【図1B-C】同上。

【図2】hMPV F特異的mAbのエピトープマッピング。(A)hMPV B2 Fタンパク質へのmAb結合についてのエピトープマッピング。データは、第2の抗体単独と比較した、一次抗体の存在下での第2の抗体のパーセント結合を示す。セルは、右に示される注釈に従う勾配で着色されている。(B)対照mAb 101F(部位IV)、196およびDS7(DS7エピトープ)、MPE8およびMPV364(部位III)、ならびにMPV458(66~87エピトープ)に対するエピトープが、第2のmAbとして使用され、(A)中の色に従って標識される。選択された対照mAbもまた、陽性遮断対照として、第1のmAbとして使用した。(C)MPE8およびMPV364(部位III)、101F(部位IV)、DS7、ならびにMPV458(66~87エピトープ)のmAb結合部位が、モノマー性融合前hMPV Fの表面上に示される。各mAbについてエピトープマッピングから推定されたエピトープが示される。アスタリスク付きのmAbは、以前に発見されたものである。

【図3】各mAbの存在下でのTHP-1細胞によるhMPV Fコーティングされたビーズのパーセントファゴサイトーシスを、フローサイトメトリーを使用して評価した。食作用スコア(B)に加えて、mAbなし対照と比較した各mAbについての貪食細胞の相対的パーセント増加(A)が示される。棒は3つの反復の平均を示し、エラーバーは標準偏差である。

【図4】hMPV複製に対する*in vivo*でのMPV467の保護有効性。(A)BALB/cマウスを、鼻腔内hMPV感染の24時間前(予防研究)または3日後(処置研究)に、10mg/kgのmAb MPV467で腹腔内処置した。予防研究(B)および処置研究(C)における各処置群(n=10匹のマウス/群、5匹の雄性、5匹の雌性)中のBALB/cマウスの肺ホモジネートにおけるウイルス力価を、プラークアッセイによって決定した。n.s.=有意性なし、**P=0.0016、***P=0.0003~0.0001、****P<0.0001。検出限界(LOD)は破線で示される。ND=検出されず。

【図5】MPV467は、部位IIおよびVにおいて融合前hMPV Fに結合する。(A)(左)2つの異なる等高線レベルで示される、hMPV F-MPV467 Fab複合体のcryo-EMマップの側面図。グローバルマップは白色透明マップとして示される。粒子減算されたDeepEMhancedマップは不透明であり、単一のプロトマーが同定されている。(右)粒子減算されたDeepEMhancedマップの、上から見下ろす図。(B)hMPV Fトリマーの単一のプロトマーおよびMPV467 Fab

10

20

30

40

50

b可変ドメインが、リボンとして示される(hMPV F:青色、Fab:赤色/橙色)。(C)MPV467とhMPV Fとの界面の拡大図。ビュー方向は、パネル(B)中で四角形および矢印によって示される。重要な残基はスティックとして示される。水素結合および塩橋は黒色点線として示される。酸素原子は赤色で着色され、窒素は青色である。

【図6】hMPV Fタンパク質特異的mAbの中和プロファイル。データは、3つの反復からの平均を示し、エラーバーは標準偏差である。データは、少なくとも2回の独立した実験からの結果の代表である。

【図7】hMPV Fタンパク質特異的mAbのELISA結合曲線。単離されたmAbと組換えhMPV Fタンパク質構築物とのELISA結合曲線。融合前RSV Fタンパク質(DsCav1)を利用して、いずれかのmAbがRSV Fと交差反応するかどうかを決定した。以前に発見されたhMPV F特異的mAb MPV196を、陰性結合対照として使用した。各点は、4つの反復からのデータの平均を示し、エラーバーは標準偏差を示す。データは、少なくとも2回の独立した実験からの結果の代表である。

【図8】MPV467のcryo-EM処理ワークフロー。cryo-EMデータ処理ワークフローの、代表的な顕微鏡写真からDeepEMhancerマップまでの各ステップが示される。使用したコンピュータプログラムおよびアルゴリズムが、各ステップについてラベルされている。粒子減算に使用したマスクは、透明シアンとして着色される。

【図9A-B】MPV467のcryo-EM検証。(A)(上)均一精密化3D再構築についてのFSC曲線。水平の青色線は、0.143のFSC値に対応する。(下)cryoSPARCにおいて計算した分布表示プロット(viewing distribution plot)。(B)粒子減算された非一様(non-uniform)精密化3D再構築についてのFSC曲線および分布表示プロット。(上)非一様精密化3D再構築についてのFSC曲線。水平の青色線は、0.143のFSC値に対応する。(下)cryoSPARCにおいて計算した分布表示プロット。(C)局所的解像度によって着色した、均一精密化(左)および粒子減算された非一様精密化(右)のcryo-EMマップ。cryo-EMマップは、上面図(上)および側面図(下)として示される。(D)MPV467が結合したDS-Caves2-IPDSのcryo-EMマップが、側面図(左)および上面図(右)で示される。単一のプロトマーが、ドッキングされたリボンモデルを用いて、透明な着色された表面として示される(DS-Caves2-IPDS:青色;MPV467重鎖:赤色、MPV467軽鎖:橙色)。(E)MPV467重鎖(左)および軽鎖(右)とDS-Caves2-IPDSとの結合界面。cryo-EMマップが、リボンおよびスティックとして示されるドッキングされたモデルを用いて、透明表面として示される。Dと同じ着色。

【図9C-E】同上。

【図10】図10は、表1である。hMPV F特異的mAbの中和および結合特性。中和値を、ブランク低減アッセイを使用して決定した。IC₅₀は、50%のブランク低減が観察されたmAb濃度に対応する。EC₅₀値は、最大半量シグナルが、405nmでの光学密度に基づいてELISAにおいて得られた濃度に対応する。>は、試験した最も高いmAb濃度において、結合シグナルが1μg/mLを下回ったことを示す。各値は、中和実験については3つの技術的反復の平均であり、結合実験については4つの技術的反復の平均である。各実験を、少なくとも2回独立して反復した。

【図11】図11は、表2である。MPV467についてのEMデータ収集。

【図12】免疫抑制されたコットンラット対正常コットンラットにおけるhMPVの複製およびクリアランス。反復シクロホスファミド処置を介して免疫抑制されたコットンラット(Immunosuppr)または正常コットンラット(正常)を、動物1匹当たり10⁵PFUのhMPVでチャレンジした。感染の5日後、7日後または9日後に、動物を犠牲にし、肺および鼻試料を、ブランクアッセイとその後の免疫染色とによるウイルス力価測定のために収集した。結果は、1群当たり4~10匹の動物についての幾何平均±S.E.M.を示す(2つの研究から組み合わせたデータ)。*同じ日に犠牲にしたhMP

V 感染させた正常動物と比較した場合に、 $p < 0.05$ 。

【図 13】免疫抑制されたコットンラットにおける hMPV 感染の MPV 467 予防および治療：抗ウイルス効果の用量依存性。免疫抑制された *S. hispidus* を、 10^5 PFU/動物の hMPV でチャレンジした。MPV 467 処置を、hMPV チャレンジの 1 日前 (Prophyl) または 3 日後 (Therap) に、0.1、1 または 10 mg/kg として筋肉内投与した。感染の 5 日後に、動物を犠牲にし、肺および鼻試料を、hMPV 定量化のために収集した。結果は、1 群当たり 5 匹の動物についての幾何平均 $\pm$ S.E.M. を示す。* 感染の 5 日後に犠牲にした hMPV 感染させたモック処置した動物と比較した場合に、 $p < 0.05$ 。

【図 14】hMPV を感染させた免疫抑制されたコットンラットにおける遅延したウイルスクリアランスに対する抗体治療の効果。免疫抑制されたおよび正常な *S. hispidus* を、 10^5 PFU/動物の hMPV でチャレンジし、感染の 3 日後 (正常) ならびに 3 日後および 7 日後 (免疫抑制された) に、10 mg/kg の MPV 467 で処置した。感染の 5 日後または 9 日後に、動物を犠牲にし、肺および鼻試料を、hMPV 定量化のために収集した。結果は、1 群当たり 4~10 匹の動物についての幾何平均 $\pm$ S.E.M. を示す。* 対応する日に犠牲にした hMPV 感染させたモック処置した動物と比較した場合に、 $p < 0.05$ 。

【図 15】hMPV を感染させた正常なおよび免疫抑制されたコットンラットにおける肺組織病理に対する抗体治療の効果。免疫抑制されたおよび正常な *S. hispidus* を、 10^5 PFU/動物の hMPV でチャレンジし、図 14 の説明に記載されるように、MPV 467 で処置した。肺組織病理を、以下のカテゴリーの各々において、ヘマトキシリン-エオシン (H&E) スライドにおいて評価した：細気管支周囲炎 (Peribr)、血管周囲炎 (Perivasc)、間質性炎症 (Interst)、肺炎 (Alveol) および上皮過形成 (Epith. Hyp.)。結果は、各群について 4~5 匹の動物についての平均 $\pm$ SE を示す。

【図 16】hMPV を感染させた正常なおよび免疫抑制されたコットンラットにおける肺サイトカイン/ケモカイン発現に対する抗体治療の効果。免疫抑制されたおよび正常な *S. hispidus* を、 10^5 PFU/動物の hMPV でチャレンジし、10 mg/kg の MPV 467 または PBS (モック) で処置し、感染の 9 日後に犠牲にした。MIP-1 α および IP-10 mRNA の発現を、qPCR によって肺組織において定量化し、対応する臓器における β -アクトチンの発現によって正規化した。結果は、各群について 4~5 匹の動物についての平均 $\pm$ SE を示す。* 未感染の (Ctl) または PBS (モック) もしくは MPV 467 (Ab) 処置を受けている正常動物と比較して、 $p < 0.05$ 。
モック処置した動物に対して、抗体処置動物について $p < 0.05$ 。

【発明を実施するための形態】

【0019】

いくつかの実施形態の詳細な説明

hMPV F タンパク質は、ウイルスサブグループ (A1、A2、B1、B2) 間で高い保存を有するトリマー性クラス E ウイルス融合タンパク質である (Huang and Mousa, Front. Immunol. 10, 2778 (2019))。hMPV は、hMPV G タンパク質の非存在下で呼吸器上皮細胞に感染することができるが、hMPV G は、*in vivo* でのウイルス適応度のために必要とされる (Biacchesi et al., J. Virol. 78, 12877-12887 (2004))。hMPV F タンパク質は、RGD モチーフを含有し、受容体は、 $\alpha_5\beta_1$ インテグリンであると仮説が立てられている (Cox et al., J. Virol. 86, 12148-12160 (2012))。ヘパラン硫酸もまた、hMPV F タンパク質媒介性結合において役割を有することが示されており (Chang et al., J. Virol. 86, 3230-3243 (2012))、ヘパラン硫酸と hMPV F タンパク質との間での直接結合が最近実証された (Jiachen, H. et al. J. Virol. 95, e00593-21 (2021))。hMPV F は、准安定な融合前状態から融合後コンフォメーションへの遷移におけるウイルス膜と宿主細胞膜との融合を誘導する (Poor et al., PNAS

111, 2596-2605 (2014))。融合前 (Battles et al. Nat. Commun. 8, 1528 (2017)) および融合後 (Jiachen, H. et al. J. Virol. 95, e00593-21 (2021); Mas et al. PLoS Pathog. 12, e1005859 (2016)) コンフォメーションにおける hMPV F タンパク質の X 線結晶構造は解明されており、このタンパク質は、RSV F タンパク質と、類似の構造的トポロジーを共有する (McLellan et al., Curr. Top. Microbiol. Immunol. 372, 83-104 (2013))。

【0020】

RSV F と比較して、hMPV F タンパク質上の具体的なエピトープに関する情報は不足していた。RSV F と hMPV F との間での免疫学的特色における明確な差異が同定されている。例えば、融合前および融合後 hMPV F タンパク質は、類似の抗体応答を惹起し、これは、中和エピトープの大多数が両方のコンフォメーションにおいて存在するが (Jiachen, H. et al. J. Virol. 95, e00593-21 (2021); Battles et al. Nat. Commun. 8, 1528 (2017); Pilaev et al., Vaccine 38, 2122-2127 (2020))、RSV F については、大多数の最も強力な中和抗体が、融合前特異的エピトープを標的とする (Huang and Mousa, Front. Immunol. 10, 2778 (2019); Gilman et al., Sci. Immunol. 1, 1-12 (2016); Mousa et al., Nat. Microbiol. 2, 16271 (2017)) ことを示唆している。hMPV F タンパク質上の公知の中和エピトープには、hMPV F もまた中和する RSV F mAb の同定に基づいて、抗原性部位 IV (Mas et al. PLoS Pathog. 12, e1005859 (2016); Mousa et al., PLoS Pathog. 14, e1006837 (2018); Schuster et al., J. Infect. Dis. 211, 1-34 (2014))、III (Corti et al., Nature 501, 439-43 (2013); Wen et al., Nat. Microbiol. 2, 16272 (2017)) および V (Xiao et al., MAbs 11, 1415-1427 (2019)) が含まれる。ヒト mAb DS7 によって標的とされる独自のエピトープは、構造的に定義されている (Wen et al. Nat. Struct. Mol. Biol. 19, 461-463 (2012))。さらに、mAb MPV458 によって定義された、hMPV F タンパク質のトリマー界面内に位置する新規エピトープが最近同定された (Huang and Mousa, PLoS Pathog. 16, e1008942 (2020))。中和 hMPV F エピトープのさらなる理解のために、hMPV F タンパク質に対する 18 個のヒト mAb のパネルが単離された。

【0021】

2 つの mAb : MPV467 および MPV487 は、強力な中和活性を有することが実証され、MPV467 は例外的に強力であった。MPV467 が、マウスにおいて hMPV 感染を予防および処置することができることもまた実証され、cryo-電子顕微鏡法を使用して、MPV467 のエピトープが、抗原性部位 II および V の両方に対する界面となる複雑な結合部位を標的とすることが決定された。

【0022】

I. 用語の要約

特記しない限り、専門用語は、従来の用法に従って使用される。分子生物学における多くの一般的な用語の定義は、Krebs et al. (eds.), Lewin's genes XII, published by Jones & Bartlett Learning, 2017 中に見出され得る。本明細書で使用される場合、単数形「1つの (a)」、「1つの (an)」および「この (the)」は、文脈が他を明らかに示さない限り、単数形ならびに複数形の両方を指す。例えば、用語「1つの (an) 抗原」は、単一または複数の抗原を含み、語句「少なくとも 1 つの抗原」と等価とみなされ得る。本明細書で使用される場合、用語「含む (comprises)」は、「含む (includes)」を意味する。核酸またはポリペプチドについて与えられる任意のおよび全ての塩基サイズまたはアミノ酸サイズ、ならびに全ての分子量 (molecular weight) または分子量 (molecular mass) 値は近似であり、他に示されない限り、記述目的のために提供されることがさらに理解される。本明細書に記載される方法および材料と類似または等価な多くの方法および材料

が使用され得るが、特定の適切な方法および材料が本明細書に記載される。矛盾する場合、用語の説明を含む本明細書が支配する。さらに、材料、方法および例は、例示に過ぎず、限定を意図しない。種々の実施形態の再検討を容易にするために、以下の用語の説明が提供される：

【0023】

約：文脈が他を示さない限り、「約」は、参照値のプラスまたはマイナス5%を指す。例えば、「約」100は、95～105を指す。

【0024】

投与：選択された経路による対象中への組成物の導入。投与は、局所または全身性であり得る。例えば、選択された経路が静脈内である場合、組成物（例えば、開示される抗体または抗原結合性断片を含む組成物）は、対象の静脈中に組成物を導入することによって投与される。例示的な投与経路には、経口、注射（例えば、皮下、筋肉内、皮内、腹腔内および静脈内）、舌下、直腸、経皮（例えば、外用）、鼻腔内、膈および吸入経路が含まれるがこれらに限定されない。

【0025】

薬剤：目的または結果を達成するために有用な任意の物質または物質の任意の組合せ；例えば、対象においてhMPV感染を阻害するために有用な物質または物質の組合せ。薬剤には、タンパク質、核酸分子、化合物、小分子、有機化合物、無機化合物、または目的の他の分子が含まれる。薬剤には、治療剤（例えば、抗レトロウイルス剤）、診断剤または医薬品剤が含まれ得る。一部の実施形態では、薬剤は、抗ウイルス剤と必要に応じて組み合わせた、hMPVに特異的に結合する抗体である。当業者は、特定の薬剤が1つよりも多くの結果を達成するために有用であり得ることを理解する。

【0026】

アミノ酸置換：ポリペプチド中の1つのアミノ酸の、異なるアミノ酸による置き換えまたはアミノ酸なしによる置き換え（即ち、欠失）。一部の例では、ポリペプチド中のアミノ酸は、相同なポリペプチドからのアミノ酸で置換される、例えば、組換えグループA MPV Fポリペプチド中のアミノ酸は、グループB MPV Fポリペプチドからの対応するアミノ酸で置換され得る。

【0027】

抗体および抗原結合性断片：分析物（抗原）、例えば、hMPV Fポリペプチドに特異的に結合しそれを認識する、免疫グロブリン、抗原結合性断片またはそれらの誘導体。用語「抗体」は、最も広い意味で本明細書で使用され、所望の抗原結合活性を示す限り、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、多特異性抗体（例えば、二特異性抗体）および抗原結合性断片が含まれるがこれらに限定されない種々の抗体構造を包含する。

【0028】

抗体の非限定的な例には、例えば、インタクトな免疫グロブリンならびに抗原に対する結合親和性を保持するそのバリエーションおよび断片が含まれる。抗原結合性断片の例には、Fv、Fab、Fab'、Fab'-SH、F(ab)₂；ディアボディ（diabody）；直鎖抗体；単鎖抗体分子（例えば、scFv）；および抗体断片から形成された多特異性抗体が含まれるがこれらに限定されない。抗体断片には、抗体全体の改変によって産生された抗原結合性断片または組換えDNA方法論を使用してde novo合成された抗原結合性断片が含まれる（例えば、Kontermann and Dubel (Eds.), Antibody Engineering, Vols. 1-2, 2nd ed., Springer-Verlag, 2010を参照されたい）。

【0029】

抗体には、遺伝子操作された形態、例えば、キメラ抗体（例えば、ヒト化マウス抗体）およびヘテロコンジュゲート抗体（例えば、二特異性抗体）もまた含まれる。

【0030】

抗体は、1つまたは複数の結合部位を有し得る。1つよりも多くの結合部位が存在する場合、それらの結合部位は、互いに同一であっても異なってもよい。例えば、天然に存在

10

20

30

40

50

する免疫グロブリンは、2つの同一な結合部位を有し、単鎖抗体またはFab断片は、1つの結合部位を有するが、二特異性または二機能性抗体は、2つの異なる結合部位を有する。

【0031】

典型的には、天然に存在する免疫グロブリンは、ジスルフィド結合によって相互接続された重(H)鎖および軽(L)鎖を有する。免疫グロブリン遺伝子には、カッパ、ラムダ、アルファ、ガンマ、デルタ、イプシロンおよびミュー定常領域遺伝子、ならびに無数の免疫グロブリン可変ドメイン遺伝子が含まれる。2つの型の軽鎖：ラムダ(λ)およびカッパ(κ)が存在する。抗体分子の機能的活性を決定する5つの主要な重鎖クラス（またはアイソタイプ）：IgM、IgD、IgG、IgAおよびIgEが存在する。

10

【0032】

各重鎖および軽鎖は、定常領域（または定常ドメイン）および可変領域（または可変ドメイン）を含有する。組み合わさって、重鎖および軽鎖可変領域は、抗原に特異的に結合する。

【0033】

「V_H」または「V_H」に対する言及は、抗原結合性断片、例えば、Fv、scFv、dsFvまたはFabのものが含まれる、抗体重鎖の可変領域を指す。「V_L」または「V_L」に対する言及は、Fv、scFv、dsFvまたはFabのものが含まれる、抗体軽鎖の可変ドメインを指す。

【0034】

V_HおよびV_Lは、「相補性決定領域」または「CDR」とも呼ばれる3つの超可変領域が差し挟まった「フレームワーク」領域を含有する（例えば、Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th ed., NIH Publication No. 91-3242, Public Health Service, National Institutes of Health, U.S. Department of Health and Human Services, 1991を参照されたい）。異なる軽鎖または重鎖のフレームワーク領域の配列は、種内で比較的保存されている。構成成分の軽鎖および重鎖の組み合わされたフレームワーク領域である、抗体のフレームワーク領域は、CDRを三次元空間に位置させ整列させるように機能する。

20

【0035】

CDRは、抗原のエピトープへの結合を主に担う。所与のCDRのアミノ酸配列境界は、Kabat et al. (Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th ed., NIH Publication No. 91-3242, Public Health Service, National Institutes of Health, U.S. Department of Health and Human Services, 1991; 「Kabat」番号付けスキーム)、Al-Lazikani et al., ("Standard conformations for the canonical structures of immunoglobulins," J. Mol. Bio., 273(4):927-948, 1997; 「Chothia」番号付けスキーム)およびLefranc et al. ("IMGT unique numbering for immunoglobulin and T cell receptor variable domains and Ig superfamily V-like domains," Dev. Comp. Immunol., 27(1):55-77, 2003; 「IMGT」番号付けスキーム)によって記載されるものが含まれるいくつかの周知のスキームのいずれかを使用して容易に決定することができる。各鎖のCDRは、典型的には、(N末端からC末端に)CDR1、CDR2およびCDR3と呼ばれ、また、典型的には、特定のCDRがその中に位置する鎖によって同定される。したがって、V_H CDR3は、それが見出される抗体のV_H由来のCDR3であるが、V_L CDR1は、それが見出される抗体のV_L由来のCDR1である。軽鎖CDRは、LCDR1、LCDR2およびLCDR3と呼ばれる場合がある。重鎖CDRは、HCDR1、HCDR2およびHCDR3と呼ばれる場合がある。

30

40

【0036】

一部の実施形態では、開示される抗体は、異種定常ドメインを含む。例えば、抗体は、ネイティブ定常ドメインとは異なる定常ドメイン、例えば、半減期を増加させるための1

50

つまたは複数の改変（例えば、「L S」変異）を含む定常ドメインを含む。

【0037】

「モノクローナル抗体」は、実質的に均一な抗体の集団から得られる抗体である、即ち、集団を構成する個々の抗体は、例えば、天然に存在する変異を含有するまたはモノクローナル抗体調製物の産生の間に生じる可能なバリエーション抗体を除き、同一であるおよび／または同じエピトープに結合し、かかるバリエーションは一般に、微量で存在する。異なる決定基（エピトープ）に対する異なる抗体を典型的には含むポリクローナル抗体調製物とは対照的に、モノクローナル抗体調製物の各モノクローナル抗体は、抗原上の単一の決定基に対するものである。したがって、修飾語「モノクローナル」は、抗体の実質的に均一な集団から得られたという抗体の特徴を示し、任意の特定の手法による抗体の産生を要求するとは解釈されない。例えば、モノクローナル抗体は、ハイブリドーマ法、組換えDNA法、ファージディスプレイ法、およびヒト免疫グロブリン遺伝子座の全てもしくは一部を含有するトランスジェニック動物を利用する方法が含まれるがこれらに限定されない種々の技法によって作製され得、かかる方法およびモノクローナル抗体を作製するための他の例示的な方法は、本明細書に記載される。一部の例では、モノクローナル抗体は、対象から単離される。モノクローナル抗体は、抗原結合に対しても他の免疫グロブリン機能に対しても実質的に影響を有さない保存的アミノ酸置換を有し得る（例えば、Greenfield (Ed.), *Antibodies: A Laboratory Manual*, 2nd ed. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2014を参照されたい）。

【0038】

「ヒト化」抗体または抗原結合性断片は、ヒトフレームワーク領域と非ヒト（例えば、マウス、ラットまたは合成）抗体または抗原結合性断片由来の1つまたは複数のCDRを含む。CDRを提供する非ヒト抗体または抗原結合性断片は、「ドナー」と呼ばれ、フレームワークを提供するヒト抗体または抗原結合性断片は、「アクセプター」と呼ばれる。一実施形態では、全てのCDRが、ヒト化免疫グロブリン中で、ドナー免疫グロブリン由来である。定常領域は、存在する必要はないが、存在する場合には、ヒト免疫グロブリン定常領域に対して実質的に同一、例えば、少なくとも約85～90%、例えば、約95%またはそれよりも大きく同一であり得る。したがって、おそらくはCDRを除くヒト化抗体または抗原結合性断片の全ての部分は、天然のヒト抗体配列の対応する部分に対して実質的に同一である。

【0039】

「キメラ抗体」は、典型的には異なる種のものである2つの異なる抗体に由来する配列を含む抗体である。一部の例では、キメラ抗体は、1つのヒト抗体由来の1つまたは複数のCDRおよび／またはフレームワーク領域ならびに別のヒト抗体由来のCDRおよび／またはフレームワーク領域を含む。

【0040】

「完全ヒト抗体」または「ヒト抗体」は、ヒトゲノム由来の（またはそれに由来する）配列を含み、別の種由来の配列を含まない抗体である。一部の実施形態では、ヒト抗体は、CDR、フレームワーク領域、および（存在する場合には）ヒトゲノム由来の（またはそれに由来する）Fc領域を含む。ヒト抗体は、例えば、ファージディスプレイによって、またはトランスジェニック動物を使用して、ヒトゲノムに由来する配列に基づいて抗体を創出するための技術を使用して同定および単離され得る（例えば、Barbas et al. *Phage display: A Laboratory Manual*, 1st Ed. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2004. Print.; Lonberg, *Nat. Biotech.*, 23: 1117-1125, 2005; Lonenberg, *Curr. Opin. Immunol.*, 20: 450-459, 2008を参照されたい）。

【0041】

MPVを中和する抗体または抗原結合性断片：hMPV感染を阻害することに関連する、生物学的機能を阻害するような方法で、hMPV抗原、例えば、hMPV（例えば、Fタンパク質）に特異的に結合する抗体または抗原結合性断片。抗体は、病原体の生活環の

間の種々のポイントにおいてhMPVの活性を中和することができる。

【0042】

生物学的試料：対象から得られた試料。生物学的試料には、細胞、組織ならびに体液、例えば、血液、血液の誘導体および画分（例えば、血清）、脳脊髄液；ならびに生検されたまたは外科的に取り出された組織、例えば、未固定の、凍結された、またはホルマリンもしくはパラフィン中で固定された組織が含まれるがこれらに限定されない、対象における疾患または感染（例えば、hMPV感染）の検出のために有用な全ての臨床試料が含まれる。特定の例では、生物学的試料は、hMPV感染を有するまたは有すると疑われる対象から得られる。

【0043】

二特異性抗体：2つの異なる抗原性エピトープに結果として結合する、2つの異なる抗原結合ドメインから構成される組換え分子。二特異性抗体には、2つの抗原結合ドメインの化学的または遺伝的に連結された分子が含まれる。抗原結合ドメインは、リンカーを使用して連結され得る。抗原結合ドメインは、モノクローナル抗体、抗原結合性断片（例えば、Fab、scFv）、またはそれらの組合せであり得る。二特異性抗体は、1つまたは複数の定常ドメインを含み得るが、定常ドメインを必ずしも含まない。

【0044】

免疫複合体を形成するのに十分な条件：実質的に全ての他のエピトープへの結合よりも検出可能に大きい程度まで、および／または実質的に全ての他のエピトープへの結合の実質的な排除まで、抗体またはその抗原結合性断片をその同族エピトープに結合させる条件。免疫複合体を形成するのに十分な条件は、結合反応の形式に依存し、典型的には、イムノアッセイプロトコールで利用される条件、または*in vivo*で遭遇する条件である。イムノアッセイの形式および条件の記載については、Harlow & Lane, *Antibodies, A Laboratory Manual*, 2nd ed. Cold Spring Harbor Publications, New York (2013)を参照されたい。これらの方法で使用される条件は、生きた哺乳動物または哺乳動物細胞の典型的な内側の条件（例えば、温度、モル浸透圧濃度、pH）に対する言及を含む「生理的条件」である。一部の臓器が極端な条件にさらされることは認識されているが、生物内および細胞内環境は通常、およそpH 7（例えば、pH 6.0～pH 8.0、より典型的には、pH 6.5～7.5）にあり、優勢な溶媒として水含有し、0℃を上回りかつ50℃を下回る温度で存在する。モル浸透圧濃度は、細胞の生存度および増殖を支持する範囲内である。

【0045】

コンジュゲート：一緒に連結された、例えば、共有結合によって一緒に連結された、2つの分子の複合体。一実施形態では、抗体がエフェクター分子に連結される；例えば、エフェクター分子に共有結合により連結された、hMPV Fタンパク質に特異的に結合する抗体。連結は、化学的手段または組換え手段によるものであり得る。一実施形態では、連結は化学的なものであり、このとき、抗体部分とエフェクター分子との間での反応は、2つの分子間で形成される共有結合を産生し、1つの分子を形成する。ペプチドリンカー（短いペプチド配列）が、必要に応じて、抗体とエフェクター分子との間に含められ得る。コンジュゲートは、別々の機能性を有する2つの分子、例えば、抗体およびエフェクター分子から調製され得るので、「キメラ分子」とも呼ばれる場合がある。

【0046】

保存的バリエーション：「保存的」アミノ酸置換は、タンパク質の機能、例えば、タンパク質が標的タンパク質と相互作用する能力に実質的に影響することもそれを減少させることもない置換である。例えば、MPV特異的抗体は、参照抗体配列と比較して、最大で1、2、3、4、5、6、7、8、9個または最大で10個の保存的置換を含み得、MPVに対する特異的結合活性および／またはMPV中和活性を保持し得る。保存的バリエーションという用語もまた、未置換の親アミノ酸の代わりに、置換されたアミノ酸の使用を含む。

【0047】

10

20

30

40

50

コードされた配列中の単一アミノ酸または小さいパーセンテージのアミノ酸（例えば、5%未満、一部の実施形態では、1%未満）を変更、付加または欠失する、個々の置換、欠失または付加は、変更が化学的に類似のアミノ酸によるあるアミノ酸の置換を生じる、保存的バリエーションである。

【0048】

以下の6つの群が、互いに保存的置換であるとみなされるアミノ酸の例である：

- 1) アラニン (A)、セリン (S)、スレオニン (T)；
- 2) アスパラギン酸 (D)、グルタミン酸 (E)；
- 3) アスパラギン (N)、グルタミン (Q)；
- 4) アルギニン (R)、リシン (K)；
- 5) イソロイシン (I)、ロイシン (L)、メチオニン (M)、バリン (V)；および
- 6) フェニルアラニン (F)、チロシン (Y)、トリプトファン (W)。

10

【0049】

非保存的置換は、hMPV特異的抗体の活性または機能、例えば、hMPV Fタンパク質に特異的に結合する能力またはhMPVを中和する能力を低減させる置換である。例えば、あるアミノ酸残基がタンパク質の機能にとって必須である場合、他の点では保存的な置換であっても、その活性を破壊し得る。したがって、保存的置換は、目的のタンパク質の基本的な機能を変更しない。

【0050】

接触させる：直接的な物理的会合状態に置くこと；固体形態または液体形態での両方が含まれ、*in vivo*または*in vitro*のいずれかで起こり得る。接触させることには、1つの分子と別の分子との間での接触、例えば、別のポリペプチドと接触する、1つのポリペプチド、例えばペプチドの表面上のアミノ酸が含まれる。接触させることには、例えば、ポリペプチドを細胞と直接的な物理的会合状態に置くことによって、細胞を接触させることもまた含まれ得る。

20

【0051】

対照：参照標準。一部の実施形態では、対照は、健康な患者から得られた陰性対照試料である。他の実施形態では、対照は、MPV感染と診断された患者から得られた陽性対照試料である。なお他の実施形態では、対照は、歴史的対照または標準的な参照値もしくはは値の範囲（例えば、以前に試験された対照試料、例えば、既知の予後もしくはは転帰を有するMPV患者の群、またはベースラインもしくはは正常値を示す試料の群）である。

30

【0052】

試験試料と対照との間の差異は、増加、または逆に減少であり得る。差異は、質的差異または量的差異、例えば、統計的に有意な差異であり得る。一部の例では、差異は、対照と比較した、少なくとも約5%、例えば、少なくとも約10%、少なくとも約20%、少なくとも約30%、少なくとも約40%、少なくとも約50%、少なくとも約60%、少なくとも約70%、少なくとも約80%、少なくとも約90%、少なくとも約100%、少なくとも約150%、少なくとも約200%、少なくとも約250%、少なくとも約300%、少なくとも約350%、少なくとも約400%、少なくとも約500%の、または500%よりも大きい、増加または減少である。

40

【0053】

縮重バリエーション：本開示の文脈では、「縮重バリエーション」は、遺伝コードの結果として縮重している配列を含むポリペプチド（例えば、組換えMPV Fタンパク質またはその免疫原性断片）をコードするポリヌクレオチドを指す。20種の天然アミノ酸が存在し、そのほとんどは、1つよりも多くのコドンによって特定される。したがって、そのヌクレオチド配列によってコードされるペプチドのアミノ酸配列が未変化である限り、ペプチドをコードする全ての縮重ヌクレオチド配列が含まれる。

【0054】

検出可能なマーカー：第2の分子の検出を容易にするために、第2の分子、例えば、抗体に直接的または間接的にコンジュゲートされる、検出可能な分子（標識としても公知）

50

。例えば、検出可能なマーカーは、E L I S A、分光光度法、フローサイトメトリー、顕微鏡法または診断的イメージング技法（例えば、C T スキャン、M R I、超音波、光ファイバー試験および腹腔鏡試験）による検出が可能であり得る。検出可能なマーカーの具体的な非限定的な例には、フルオロフォア、化学発光剤、酵素的連結、放射性アイソトープおよび重金属または化合物（例えば、M R I による検出のための超常磁性酸化鉄ナノ結晶）が含まれる。検出可能なマーカーを使用するための方法および種々の目的のために適切な検出可能なマーカーの選択におけるガイダンスは、例えば、Green and Sambrook (Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 4th ed., New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2012)およびAusubel et al. (Eds.) (Current Protocols in Molecular Biology, New York: John Wiley and Sons, including supplements, 2017)で議論されている。

10

【0055】

検出する：なにがしかの存在 (e x i s t e n c e)、存在 (p r e s e n c e) または事実 (f a c t) を同定すること。

【0056】

D S 7 抗体：h M P V F タンパク質の融合前および融合後コンフォメーション上に存在するh M P V F タンパク質上のエピトープに特異的に結合する中和モノクローナル抗体。D S 7 抗体は、その融合後コンフォメーションにあるh M P V F には特異的に結合しない。D S 7 抗体およびその産生のための方法は、例えば、その全体が参照により本明細書に組み込まれる、Wen et al., Nat. Struct. Mol. Biol., 19, 461-463, 2012に記載されている。D S 7 抗体の重および軽可変領域のアミノ酸配列は、配列番号 41 および 42 として提供され、番号 4 D A G _ H (D S 7 V_H) および 4 D A G _ L (D S 7 V_L) としてP D B に寄託されており、その各々は、2014年11月10日時点のデータベース中に存在するとして、参照により本明細書に組み込まれる。

20

【化1】

DS7 V_H - EVQLLESGGGLVQPGGSRRLSCAASGFTVSSSYMSWVRQTPGKGLEWISVFYSGGTTY
ADAVKGRFSISMDTSKNTLHLQMNSLRVEDTAIYYCARVLSRASGMPDAFDIWGPGTMVTVSS
(配列番号 145)

DS7 V_L - ELALIQPASVSVSPGQTASITCSGDKLGDKYASWYQQKPGQSPVLVIYQDSERPSGIPERFS
GSNSGNTATLTISGTQAMDEADYYCQAWDSSTAVFGGGTTLTVLGQ (配列番号 146)

30

【0057】

有効量：その物質が投与された対象において所望の効果を達成するのに十分な、特定の物質の量。例えば、これは、h M P V 感染を阻害するのに、またはh M P V 感染の表面的な症状を測定可能に変更するのに必要な抗体の量であり得る。

【0058】

一部の実施形態では、h M P V F タンパク質に結合する開示される抗体または抗原結合性断片の有効量の投与は、適切な対照と比較して、M P V 感染（例えば、細胞の感染によって、またはh M P V に感染した対象の数もしくはパーセンテージによって、または感染対象の生存時間における増加、もしくはh M P V に関連する症状における低減によって、測定される）を、所望の量、例えば、少なくとも10%、少なくとも20%、少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも98%、またはさらには少なくとも100%（検出可能なh M P V 感染の除外または予防）、低減または阻害することができる。

40

【0059】

h M P V 感染を阻害するために対象に投与される、h M P V F タンパク質に特異的に結合する抗体または抗原結合性断片の有効量は、その対象に関連するいくつかの因子、例えば、対象の全般的健康および／または体重に依存して変動する。有効量は、投薬量を変動させ、得られた応答、例えば、病原体力価における低減などを測定することによって、

50

決定され得る。有効量は、種々の *in vitro*、*in vivo* または *in situ* イムノアッセイを介して決定することもできる。

【0060】

有効量は、以前のまたは引き続き投与と組み合わせさせて、有効な応答を達成することに寄与する、部分的用量を包含する。例えば、薬剤の有効量は、単一の用量で、またはいくつかの用量で、例えば、数日間もしくは数週間持続する処置の過程の間、毎日投与され得る。しかし、有効量は、処置されている対象、処置されている状態の重症度および型、ならびに投与様式に依存し得る。薬剤の単位投薬形態は、例えば、無菌成分を有するバイアル（例えば、穿孔可能な蓋を有する）またはシリンジ中に、1つの量で、または複数の有効量で、包装され得る。

10

【0061】

エピトープ：抗原決定基。これらは、特異的免疫応答を惹起するように抗原性である、分子上の特定の化学基またはペプチド配列である、例えば、エピトープは、B および／またはT細胞がそれに対して応答する抗原の領域である。抗体は、特定の抗原性エピトープ、例えば、hMPV Fタンパク質上のエピトープに結合することができる。

【0062】

発現：核酸配列の転写または翻訳。例えば、遺伝子は、そのDNAが、一部の例ではmRNAになるようにプロセシングされるRNAまたはRNA断片に転写される場合に発現される。遺伝子は、そのmRNAがアミノ酸配列、例えば、タンパク質またはタンパク質断片に翻訳される場合にも、発現され得る。特定の例では、異種遺伝子は、それがRNAに転写される場合に、発現される。別の例では、異種遺伝子は、そのRNAがアミノ酸配列に翻訳される場合に、発現される。用語「発現」は、転写または翻訳のいずれかを指すために本明細書で使用される。発現の調節は、転写、翻訳、RNA輸送およびプロセシング、中間分子、例えばmRNAの分解に対する、またはそれらが産生された後の特定のタンパク質分子の活性化、不活性化、区画化もしくは分解を介した、制御を含み得る。

20

【0063】

発現制御配列：それに動作可能に連結された異種核酸配列の発現を調節する核酸配列。発現制御配列は、発現制御配列が核酸配列の転写および必要に応じて翻訳を制御および調節する場合、その核酸配列に動作可能に連結されている。したがって、発現制御配列には、適切なプロモーター、エンハンサー、転写ターミネーター、タンパク質コード遺伝子の前の開始コドン（ATG）、イントロンのためのスプライシングシグナル、mRNAの適切な翻訳を可能にするためのその遺伝子の正確なリーディングフレームの維持、ならびに停止コドンが含まれ得る。用語「制御配列」は、最低でも、その存在が発現に影響し得る成分を含む意図であり、その存在が有利である追加の成分、例えば、リーダー配列および融合パートナー配列もまた含み得る。発現制御配列には、プロモーターが含まれ得る。

30

【0064】

プロモーターは、転写を指示するのに十分な最小限の配列である。プロモーター依存的遺伝子発現を、細胞型特異的、組織特異的になるように制御可能なものにする、または外部シグナルもしくは薬剤によって誘導可能なものにするのに十分なプロモーターエレメントもまた含まれる；かかるエレメントは、遺伝子の5'領域または3'領域に位置し得る。構成的プロモーターおよび誘導性プロモーターが共に含まれる（例えば、Bitter et al., *Methods in Enzymology* 153:516-544, 1987を参照されたい）。例えば、細菌系においてクローニングする場合、誘導性プロモーター、例えば、バクテリオファージラムダのpL、pLac、pLac、pLac（pLac-pLacハイブリッドプロモーター）などが使用され得る。一実施形態では、哺乳動物細胞系においてクローニングする場合、哺乳動物細胞のゲノムに由来するプロモーター（例えば、メタロチオネインプロモーター）または哺乳動物ウイルスに由来するプロモーター（例えば、レトロウイルスの長い末端反復；アデノウイルス後期プロモーター；ワクシニアウイルス7.5Kプロモーター）が使用され得る。組換えDNA技法または合成技法によって産生されるプロモーターもまた、核酸配列の転写を提供するために使用され得る。

40

50

【0065】

ポリヌクレオチドは、宿主の挿入された遺伝子配列の効率的な転写を容易にするプロモーター配列を含有する発現ベクター中に挿入され得る。発現ベクターは、典型的には、複製起点、プロモーター、ならびに形質転換された細胞の表現型選択を可能にする特定の核酸配列を含有する。

【0066】

発現ベクター：発現されるヌクレオチド配列に動作可能に連結された発現制御配列を含む組換えポリヌクレオチドを含むベクター。発現ベクターは、発現のための十分なシス作用性エレメントを含む；発現のための他のエレメントは、宿主細胞によって、または *in vivo* 発現系において供給され得る。発現ベクターには、組換えポリヌクレオチドを取り込む、当該分野で公知の全てのもの、例えば、コスミド、プラスミド（例えば、裸の、またはリボソーム中に含有された）およびウイルス（例えば、レンチウイルス、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）が含まれる。

【0067】

Fc 領域：第1の重鎖定常ドメインを除く、抗体の定常領域。Fc 領域は、一般に、IgA、IgD および IgG の最後の2つの重鎖定常ドメイン、ならびに IgE および IgM の最後の3つの重鎖定常ドメインを指す。Fc 領域はまた、これらのドメインに対してN末端側に、柔軟性のあるヒンジの一部または全てを含み得る。IgA および IgM について、Fc 領域は、尾部を含んでも含まなくてもよく、J鎖が結合していてもいなくてもよい。IgG について、Fc 領域は、典型的には、免疫グロブリンドメイン C γ 2 および C γ 3、ならびに必要に応じて C γ 1 と C γ 2 との間のヒンジの下部を含むと理解される。Fc 領域の境界は変動し得るが、ヒト IgG 重鎖 Fc 領域は通常、Fc のカルボキシル末端に対して、C226 または P230 の後に残基を含むと定義され、ここで、番号付けは、Kabat に従う。IgA について、Fc 領域は、免疫グロブリンドメイン C α 2 および C α 3、ならびに必要に応じて、C α 1 と C α 2 との間のヒンジの下部を含む。

【0068】

異種：異なる遺伝的供給源に起源すること。それが発現される細胞以外の遺伝的供給源に起源する細胞にとって異種の核酸分子。具体的な非限定的な一例では、タンパク質、例えば、scFv をコードする異種核酸分子は、細胞、例えば、哺乳動物細胞において発現される。電気穿孔、リポフェクション、パーティクルガン加速が含まれる、核酸による形質転換、および相同組換えなどの、異種核酸分子を細胞または生物中に導入するための方法は、当該分野で周知である。

【0069】

宿主細胞：その中でベクターが増殖され得、そのDNAが発現され得る、細胞。細胞は、原核生物または真核生物であり得る。この用語は、対象宿主細胞の任意の子孫もまた含む。複製の間に変異が生じ得るので、全ての子孫が親細胞と同一であるわけではないことが理解される。しかし、用語「宿主細胞」が使用される場合、かかる子孫が含まれる。

【0070】

IgG：広く認められた免疫グロブリンガンマ遺伝子によって実質的にコードされる抗体のクラスまたはアイソタイプに属するポリペプチド。ヒトでは、このクラスは、IgG₁、IgG₂、IgG₃ および IgG₄ を含む。

【0071】

免疫複合体：可溶性抗原への抗体または抗原結合性断片（例えば、scFv）の結合は、免疫複合体を形成する。免疫複合体の形成は、従来の方法、例えば、免疫組織化学、免疫沈降、フローサイトメトリー、免疫蛍光顕微鏡法、ELISA、イムノブロットティング（例えば、ウェスタンブロット）、磁気共鳴画像法、CTスキャン、X線検査および親和性クロマトグラフィーを介して検出され得る。

【0072】

免疫応答：刺激に対する、免疫系の細胞、例えば、B細胞、T細胞または単球の応答。一実施形態では、応答は、特定の抗原に対して特異的である（「抗原特異的応答」）。一

10

20

30

40

50

実施形態では、免疫応答は、T細胞応答、例えば、CD4+応答またはCD8+応答である。別の実施形態では、応答は、B細胞応答であり、特異的抗体の産生を生じる。

【0073】

免疫原：動物中に注射または吸収される組成物、例えば、hMPVが含まれる、動物において抗体の産生またはT細胞応答を刺激することができる化合物、組成物または物質。免疫原は、特異的体液性免疫または細胞性免疫の産物と反応する。

【0074】

疾患または状態を阻害する：対象において疾患または状態の完全な発症を低減させること、例えば、MPV感染のリスク状態にある対象において、MPV感染、例えば、hMPV感染の完全な発症を低減させること。これには、疾患または状態の進行または重症度を中和する、アンタゴナイズする、禁止する、抑える、緩徐化する、破壊する、停止させる、または好転させることが含まれる。

【0075】

疾患または状態を阻害するとは、疾患または状態の引き続く発症を低減させる、および／あるいは発症後の疾患または状態の徴候または症状を軽快させる、疾患または状態が発症し始める前に投与される予防的介入（例えば、hMPV感染のリスク状態にあるが、hMPVに感染していない対象において開始される処置）を指し得る。疾患または状態を阻害することに関して、用語「軽快させる」は、疾患または状態を阻害することを意図した予防的介入の任意の観察可能な有益な効果を指す。有益な効果は、例えば、感受性対象における疾患または状態の臨床症状の遅延した開始、疾患または状態の一部または全ての臨床症状の重症度における低減、疾患または状態のより緩徐な進行、対象の全般的健康または福祉における改善、感染における低減によって、あるいは特定の疾患または状態に特異的な他のパラメーターによって、証明され得る。

【0076】

一部の実施形態では、開示されるhMPV Fタンパク質特異的抗体および抗原結合性断片は、対象におけるhMPVの成長を阻害する、例えば、抗体および抗原結合性断片は、対象におけるhMPVの増大を阻害し、適切な対照と比較した、対象における病原体負荷の低減を生じる。例えば、開示されるhMPV Fタンパク質特異的抗体および抗原結合性断片は、適切な対照と比較して、対象におけるhMPV感染を、またはウイルス複製を、少なくとも20%、少なくとも30%、少なくとも40%または少なくとも50%阻害することができる。

【0077】

単離された：その成分が天然に存在する生物の細胞中の他の生物学的成分、即ち、他の染色体および染色体外DNAおよびRNAならびにタンパク質から実質的に分離された、それから離れて産生された、またはそれから精製された、生物学的成分（例えば、核酸、ペプチド、タンパク質またはタンパク質複合体、例えば、抗体）。したがって、単離された核酸、ペプチドおよびタンパク質には、標準的な精製法によって精製された核酸およびタンパク質が含まれる。この用語は、宿主細胞における組換え発現によって調製された核酸、ペプチドおよびタンパク質、ならびに、化学的に合成された核酸もまた包含する。単離された核酸、ペプチドまたはタンパク質、例えば、抗体は、少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、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%または少なくとも99%純粋であり得る。

【0078】

Kabat位置：Kabat et al. (Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Edition, Department of Health and Human Services, Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, NIH Publication No. 91-3242, 1991)によって説明される番号付け慣習に従う、アミノ酸配列中の残基の位置。

【0079】

10

20

30

40

50

リンカー：2つの分子を連結して1つの連続する分子にするため、例えば、エフェクター分子を抗体に連結するため、または検出可能なマーカーを抗体に連結するために使用され得る、二官能性分子。ペプチドリンカーの非限定的な例には、グリシン-セリンリンカーが含まれる。

【0080】

用語「コンジュゲートする」、「接続する」、「結合させる」または「連結する」は、2つの分子を1つの連続する分子にすることを指し得る；例えば、2つのポリペプチドを連結して1つの連続するポリペプチドにすること、あるいはエフェクター分子または検出可能なマーカー放射性核種または他の分子を、ポリペプチド、例えば、scFvに共有結合させること。連結は、化学的手段または組換え手段によるものであり得る。「化学的手段」は、2つの分子間で共有結合が形成されて1つの分子を形成するような、抗体部分とエフェクター分子との間での反応を指す。

10

【0081】

メタニューモウイルス（MPV）：パラミクソウイルス科の、エンベロープ有の非分節マイナスイボリオンRNAウイルス。これは、小児および成人における、細気管支炎および肺炎が含まれる下部気道感染の一般的な原因であり、5歳までにほぼ全てのヒトに感染する。MPVは、任意の年齢において、特に、高齢者、または易感染性の心、肺もしくは免疫系を有する者において生じ得る、重症下部気道疾患が含まれる反復感染を引き起こす。hMPVは、ヒトに感染することができる。

【0082】

MPVゲノムは、糖タンパク質SH、GおよびFが含まれる9つのタンパク質をコードする8つの遺伝子を含む。Fタンパク質は、細胞原形質中へのウイルスの進入を可能にする融合を媒介する。2つのグループのヒトMPV株：AおよびBグループが記載されており、これらは、サブグループA1、A2、B1およびB2へとさらに分割される。例示的なMPV株配列は、当業者に公知である。さらに、hMPVを感染させたモデル生物が含まれる、ヒトMPV感染のいくつかのモデルが利用可能である（例えば、Herfst et al., J General Virol., 88, 2702-2709, 2007; Bayon et al., Rev. Med. Virol., 2, 15-34, 2013; およびLiu et al., Clinical Vaccine Immunol., 20, 1246-1254, 2013を参照されたい）。Fタンパク質は、ヘッド部およびテイル部を有する；ヘッド部は、融合前状態の上50%であり、テイル部は、融合前状態の下50%である。

20

30

【0083】

直接的蛍光抗体検出（DFA）、クロマトグラフィーによる迅速な抗原検出、およびRT-PCRを使用するウイルスRNAの検出の使用が含まれる、MPV感染を診断する方法が公知である。ウイルス負荷の定量化は、例えば、プラークアッセイ、抗原捕捉酵素免疫アッセイ（EIA）またはPCRによって決定され得る。抗体レベルの定量化は、サブグループ特異的中和アッセイまたはELISAによって実施され得る。現在のMPV処置には、抗ウイルス薬リバビリン（Ribavirin）、ならびにMPV Fタンパク質を認識し、動物モデルにおいてMPV感染および疾患の発生率を低減させる実験的モノクローナル抗体、例えば、MPE8（例えば、Corti et al., Nature, 501, 439-443, 2013を参照されたい）およびmAb338（Medimmune, Inc., Hamelin et al., Antiviral Res., 88, 31-37, 2010を参照されたい）の受動的投与の使用が含まれる。

40

【0084】

ヒトMPVには、グループAおよびB、ならびにサブグループA1、A2、B1およびB2が含まれる、MPVのいくつかのサブグループが存在する。MPVのサブグループ内には、各サブグループの個々の株が存在する。特定のMPV株由来のFタンパク質の配列は、公知であり、本明細書で提供される（例えば、表1を参照されたい）。

【0085】

MPV融合（F）タンパク質：ウイルス膜と細胞膜との融合を容易にする、MPVエン

50

ペロー糖タンパク質。天然には、MPV F タンパク質は、F₀と呼ばれる、長さがおおよそ540アミノ酸の単一のポリペプチド前駆体として最初に合成される。F₀は、小胞体への局在化を指示するN末端シグナルペプチドを含み、小胞体中で、シグナルペプチド（F₀の最初のおおよそ18残基）は、タンパク質分解的に切断される。残りのF₀残基は、オリゴマー化してトリマーを形成し、このトリマーは、プロテアーゼ部位（F₀のおおよそ102位と103位との間；例えば、RQSR₁₀₂（残基99～102））で再度プロセシングされて、2つのジスルフィド連結された断片：F₁およびF₂を生成する。これらの断片のうちの小さい方であるF₂は、F₀前駆体のN末端部分に起源し、F₀のおおよそ残基20～102を含む。これらの断片のうちの大きい方であるF₁は、C末端における細胞外／内腔領域（約残基103～490）、膜貫通ドメイン（約残基491～513）および原形質ドメイン（約残基514～540）を含む、F₀前駆体のC末端部分（おおよそ残基103～540）を含む。

10

【0086】

3つのF₂-F₁プロトマーは、成熟Fタンパク質においてオリゴマー化し、これは、標的細胞膜との接触の際に、（「融合後」コンフォメーションへの）コンフォメーション変化を受けるように誘発される、准安定な「融合前」コンフォメーションを採用する。このコンフォメーション変化は、F₁ポリペプチドのN末端に位置し、宿主細胞膜と会合し、ウイルスまたは感染細胞の膜の標的細胞膜との融合を促進する、融合ペプチドとして公知の疎水性配列を曝露させる。

20

【0087】

MPV F タンパク質の細胞外部分は、F₂タンパク質（おおよそMPV F の20～102位）およびF₁エクストドメイン（ectodomain）（おおよそMPV F の103～490位）を含むMPV F エクストドメインである。MPV F エクストドメイントリマーは、3つのMPV F エクストドメインのタンパク質複合体を含む。

【0088】

図2A～2Cは、競合結合に基づく、Fタンパク質の抗原性部位II、III、IVおよびVを示す。

【0089】

MPV F 融合前コンフォメーション：融合後コンフォメーションへのMPV F の遷移をもたらす融合性事象の誘発の前、かつ分泌系における成熟MPV F タンパク質へのプロセシング後に、MPV F タンパク質によって採用される構造的コンフォメーション。MPV F の融合前コンフォメーションは、他のパラミクソウイルス（例えば、RSV）のFタンパク質の融合前コンフォメーションと、全体的構造が類似している。

30

【0090】

MPE8抗体：MPV F タンパク質の融合前コンフォメーション上には存在するが融合後コンフォメーション上には存在しないMPV F タンパク質上のエピトープに特異的に結合する中和モノクローナル抗体。MPE8抗体およびその産生のための方法は、例えば、参照により本明細書に組み込まれる、Corti et al. (Nature, 501, 439-443, 2013)に記載されている。MPE8は、MPV F タンパク質の部位IIIに結合する；部位IIIは、MPE8結合によって同定することができる。本明細書で使用されるMPE8抗体の重および軽可変領域のアミノ酸配列は、配列番号43および44として提供され、MPE8重鎖および軽鎖配列は、番号AGU13651.1（MPE8 V_H）およびAGU13652.1（MPE8 V_L）としてGenBankに寄託されており、その各々は、2014年11月10日時点のデータベース中に存在するとして、参照により本明細書に組み込まれる。

40

【化2-1】

MPE8 V_H-EVQLVESGGGLVKGPGSLRLSCAASGFTFSSYSMNWVRQAPGKGLEWVSSISASSSYSD
YADSAKGRFTISRDNAKTSLFLQMNSLRAEDTAIFYCARARATGYSSITPYFDIWGQGLTVTVSS

50

【化 2 - 2】

(配列番号 147)

MPE8 V_L-QSVVTQPPSVSGAPGQRVTISCTGSSSNIGAGYDVHWYQQLPGTAPKLLIYDNNNRPSGV

PDRFSASKSGTSASLAITGLQAEDEADYYCQSYDRSLSGVFGTGTKVTVL (配列番号 148)

【0091】

中和抗体：感染性因子上の特定の抗原に結合することによって感染性因子の感染力価を低減させる抗体。一部の例では、感染性因子は、ウイルスである。一部の例では、MPV F に対して特異的な抗体は、hMPV の感染力価を中和する。「広く中和性の抗体」は、関連する抗原、例えば、抗原の抗原性表面と少なくとも 85 %、90 %、95 %、96 %、97 %、98 % または 99 % の同一性を共有する抗原に結合しその機能を阻害する抗体である。病原体、例えば、ウイルス由来の抗原に関して、抗体は、病原体の 1 つよりも多くのクラスおよび／またはサブクラス由来の抗原に結合することができ、その機能を阻害することができる。例えば、MPV に関して、抗体は、抗原、例えば、1 つよりも多くのグループ由来の MPV F に結合することができ、その機能を阻害することができる。

10

【0092】

核酸：ホスホジエステル結合を介して連結されたヌクレオチド単位（リボヌクレオチド、デオキシリボヌクレオチド、関連する天然に存在する構造的バリエーション、およびそれらの合成の天然に存在しないアナログ）から構成されるポリマー、関連する天然に存在する構造的バリエーション、およびそれらの合成の天然に存在しないアナログ。したがって、この用語には、ヌクレオチドおよびそれらの間の連結に、天然に存在しない合成アナログ、例えば、限定なしに、ホスホロチオエート、ホスホロアミデート（phosphoramidate）、メチルホスホネート、キラルメチルホスホネート、2-オ-メチルリボヌクレオチド、ペプチド-核酸（PNA）などが含まれる、ヌクレオチドポリマーが含まれる。かかるポリヌクレオチドは、例えば、自動化された DNA 合成機を使用して、合成され得る。用語「オリゴヌクレオチド」は、典型的には、一般には約 50 ヌクレオチド以下の、短いポリヌクレオチドを指す。ヌクレオチド配列が DNA 配列（即ち、A、T、G、C）によって示される場合、これは、「U」が「T」を置き換える RNA 配列（即ち、A、U、G、C）もまた含むことが理解される。

20

【0093】

「ヌクレオチド」には、糖に連結された塩基、例えば、ピリミジン、プリンもしくはそれらの合成アナログ、またはペプチド核酸（PNA）中のような、アミノ酸に連結された塩基を含むモノマーが含まれるがこれらに限定されない。ヌクレオチドは、ポリヌクレオチド中の 1 つのモノマーである。ヌクレオチド配列は、ポリヌクレオチド中の塩基の配列を指す。

30

【0094】

従来の表記法が、ヌクレオチド配列を記載するために本明細書で使用される：一本鎖ヌクレオチド配列の左側の末端は 5' 末端であり；二本鎖ヌクレオチド配列の左側方向は、5' 方向と呼ばれる。5' から 3' 方向での新生 RNA 転写物へのヌクレオチドの付加は、転写方向と呼ばれる。mRNA と同じ配列を有する DNA 鎖は、「コード鎖」と呼ばれる；その DNA から転写された mRNA と同じ配列を有し、RNA 転写物の 5' 末端に対して 5' 側に位置する DNA 鎖上の配列は、「上流配列」と呼ばれる；RNA と同じ配列を有し、コードする RNA 転写物の 3' 末端に対して 3' 側の DNA 鎖上の配列は、「下流配列」と呼ばれる。

40

【0095】

「cDNA」は、一本鎖形態または二本鎖形態のいずれかの、mRNA に対して相補的または同一な DNA を指す。

【0096】

「コードする」は、ヌクレオチドの規定された配列（即ち、rRNA、tRNA および mRNA）またはアミノ酸の規定された配列のいずれかを有する、生物学的プロセスにお

50

いて他のポリマーおよび高分子の合成のための鋳型として機能する、ポリヌクレオチド、例えば、遺伝子、cDNAまたはmRNA中のヌクレオチドの特定の配列の固有の特性、ならびにそれらから生じる生物学的特性を指す。したがって、遺伝子によって産生されるmRNAの転写および翻訳が、細胞または他の生物学的系においてタンパク質を産生する場合、その遺伝子は、タンパク質をコードする。そのヌクレオチド配列が、mRNA配列と同一であり、通常は配列表中に提供されるコード鎖と、遺伝子またはcDNAの転写のための鋳型として使用される非コード鎖との両方が、その遺伝子またはcDNAのタンパク質または他の産物をコードすると言われ得る。他に特定されない限り、「アミノ酸配列をコードするヌクレオチド配列」は、互いの縮重バージョンであり、同じアミノ酸配列をコードする、全てのヌクレオチド配列を含む。タンパク質およびRNAをコードするヌクレオチド配列は、イントロンを含み得る。

10

【0097】

その配列が第1の配列であるポリヌクレオチドが、その配列が第2の配列であるポリヌクレオチドと特異的にハイブリダイズする場合、第1の配列は、第2の配列に対して「アンチセンス」である。

【0098】

作動可能に連結された：第1の核酸配列が、第2の核酸配列と機能的に関連して配置される場合、第1の核酸配列は、第2の核酸配列と作動可能に連結されている。例えば、プロモーター、例えば、CMVプロモーターは、プロモーターがコード配列の転写または発現に影響を与える場合、コード配列に作動可能に連結されている。一般に、作動可能に連結されたDNA配列は、連続しており、必要に応じて、2つのタンパク質コード領域を同じリーディングフレームで接続する。

20

【0099】

薬学的に許容される担体：使用される薬学的に許容される担体は、従来のものである。Remington's Pharmaceutical Sciences, by E. W. Martin, Mack Publishing Co., Easton, PA, 19th Edition, 1995は、開示される抗体およびその抗原結合性断片の薬学的送達に適切な組成物および製剤を記載している。

【0100】

一般に、担体の性質は、使用されている特定の投与様式に依存する。例えば、非経口製剤は通常、薬学的および生理的に許容される流体、例えば、水、生理的食塩水、平衡塩類溶液、水性デキストロース、グリセロールなどが含まれる注射可能な流体を、ビヒクルとして含む。固体組成物（例えば、粉末、丸剤、錠剤またはカプセル形態）について、従来の非毒性固体担体には、例えば、医薬品グレードのマニトール、ラクトース、デンプンまたはステアリン酸マグネシウムが含まれ得る。生物学的に中性の担体に加えて、投与される医薬組成物は、微量の非毒性の補助物質、例えば、湿潤剤または乳化剤、防腐剤およびpH緩衝剤など、例えば、酢酸ナトリウムまたはソルビタンモノラウレートを含み得る。対象への投与に適切な特定の実施形態では、担体は、無菌であり得る、および／または1つもしくは複数の測定された用量の組成物を含有する単位投薬形態中に懸濁もしくは他の方法で含有され得る。これには、処置目的でのその使用のための薬物療法もまた伴い得る。単位投薬形態は、例えば、無菌内容物を含有する密封されたバイアル中もしくは対象中への注射のためのシリンジ中にあり得る、または引き続き可溶化および投与のために凍結乾燥され得る、または固体もしくは制御放出投薬量であり得る。

30

40

【0101】

ポリペプチド：長さまたは翻訳後改変（例えば、グリコシル化またはリン酸化）とは無関係の、アミノ酸の任意の鎖。「ポリペプチド」は、天然に存在するアミノ酸ポリマーおよび天然に存在しないアミノ酸ポリマーが含まれるアミノ酸ポリマー、ならびに、1つまたは複数のアミノ酸残基が、非天然のアミノ酸、例えば、対応する天然に存在するアミノ酸の人工的な化学的模倣物である、アミノ酸ポリマーに当てはまる。「残基」は、アミド結合またはアミド結合模倣物によってポリペプチド中に取り込まれたアミノ酸またはアミノ酸模倣物を指す。ポリペプチドは、アミノ末端（N末端）およびカルボキシ末端（C末

50

端)を有する。「ポリペプチド」は、ペプチドまたはタンパク質と相互交換可能に使用され、アミノ酸残基のポリマーを指すために本明細書で使用される。

【0102】

ポリペプチド改変：ポリペプチドおよびペプチド、例えば、本明細書で開示される抗体は、未改変のペプチドと本質的に同じ活性を有し、必要に応じて、他の望ましい特性を有する誘導体を産生するために、種々の化学的技法によって改変され得る。例えば、カルボキシル末端であれ側鎖であれ、タンパク質のカルボン酸基は、薬学的に許容されるカチオンの塩の形態で提供され得、または $C_1 \sim C_{16}$ エステルを形成するようにエステル化され得、または式 NR_1R_2 のアミドへと変換され得、式中、 R_1 および R_2 は各々独立してHもしくは $C_1 \sim C_{16}$ アルキルであり、または複素環式環、例えば、5員もしくは6員環を形成するように組み合わせられ得る。アミノ末端であれ側鎖であれ、ペプチドのアミノ基は、薬学的に許容される酸付加塩、例えば、 HCl 、 HBr 、酢酸塩、安息香酸塩、トルエンスルホン酸塩、マレイン酸塩、酒石酸塩および他の有機塩の形態であり得、あるいは $C_1 \sim C_{16}$ アルキルもしくはジアルキルアミノに改変され得、またはアミドにさらに変換され得る。

10

【0103】

ペプチド側鎖のヒドロキシル基は、十分に認識された技法を使用して、 $C_1 \sim C_{16}$ アルコキシまたは $C_1 \sim C_{16}$ エステルに変換され得る。ペプチド側鎖のフェニルおよびフェノール環は、1つまたは複数のハロゲン原子、例えば、 F 、 Cl 、 Br もしくは I で、または $C_1 \sim C_{16}$ アルキル、 $C_1 \sim C_{16}$ アルコキシ、カルボン酸およびそのエステル、もしくはかかるカルボン酸のアミドで、置換され得る。ペプチド側鎖のメチレン基は、対応する $C_2 \sim C_4$ アルキレンに拡張され得る。チオールは、いくつかの十分に認識された保護基のいずれか1つ、例えば、アセトアミド基で保護され得る。当業者は、増強された安定性を生じる構造を選択し、その構造にコンフォメーション的制約を提供するために、本開示のペプチド中に環状構造を導入するための方法もまた認識する。例えば、C末端またはN末端システインがペプチドに付加され得、その結果、酸化されると、ペプチドはジスルフィド結合を含有して、環状ペプチドを生成する。他のペプチド環化法には、チオエーテルならびにカルボキシル末端およびアミノ末端のアミドおよびエステルの形成が含まれる。

20

【0104】

精製された：精製されたという用語は、絶対的な純度を要求しない；むしろ、これは相対的な用語として意図される。したがって、例えば、精製されたペプチド調製物は、ペプチドまたはタンパク質（例えば、抗体）が、そのペプチドまたはタンパク質が細胞内のその天然の環境にあるときよりも富化されている、調製物である。一実施形態では、調製物は、タンパク質またはペプチドが、調製物の総ペプチドまたはタンパク質内容の少なくとも50%を占めるように、精製される。

30

【0105】

組換え：組換え核酸は、天然に存在しない配列を有する核酸、または配列のさもなくば分離されていた2つのセグメントの人工的な組合せによって作製される配列を有する核酸である。この人工的な組合せは、化学的合成によって、またはより一般的には、核酸の単離されたセグメントの人工的な操作によって、例えば、遺伝子操作技法によって、達成され得る。組換えタンパク質は、天然に存在しない配列を有するタンパク質、または配列のさもなくば分離されていた2つのセグメントの人工的な組合せによって作製される配列を有するタンパク質である。いくつかの実施形態では、組換えタンパク質は、宿主細胞、例えば、細菌または真核生物細胞中に導入された異種（例えば、組換え）核酸によってコードされる。核酸は、例えば、導入された核酸によってコードされるタンパク質を発現することが可能なシグナルを有する発現ベクター上で導入され得、または核酸は、宿主細胞染色体中に組み込まれ得る。

40

【0106】

呼吸器多核体ウイルス(RSV)：パラミクソウイルス科の、エンベロープ有の非分節

50

マイナスイボ鎖RNAウイルス。これは、人生の最初の1年での小児における細気管支炎および肺炎の最も一般的な原因であり、3歳までにほぼ全ての小児に感染する。RSVもまた、任意の年齢において、特に、高齢者、または易感染性の心、肺もしくは免疫系を有する者において生じ得る、重症下部気道疾患が含まれる反復感染を引き起こす。米国では、RSV細気管支炎は、乳児における入院の主要原因であり、小児期を通じた喘息および喘鳴の主要原因である (Shay et al., JAMA, 282, 1440 (1999); Hall et al., N. Engl. J. Med., 360, 588 (2009))。世界的には、RSVは、5歳よりも若い小児について、毎年66,000~199,000例の死亡の原因であり (Nair et al., Lancet, 375, 1545 (2010))、1か月~1歳の乳児における死亡の6.7%を占め、これは、マラリアを除けば、他のどの単一の病原体にも優っている (Luzano et al., Lancet, 380, 2095 (2013))。

10

【0107】

RSVゲノムは、長さが約15,000ヌクレオチドであり、糖タンパク質SH、GおよびFが含まれる11個のタンパク質をコードする10個の遺伝子を含む。Fタンパク質は、細胞原形質中へのウイルスの進入を可能にし、シンシチウムの形成もまた促進する、融合を媒介する。G糖タンパク質の抗原性における差異に基づいて、ヒトRSV株の2つのサブタイプ：AおよびBサブタイプが記載されている。ウシRSVが含まれる、他の種に対するRSV株もまた公知である。例示的なRSV株配列は、当業者に公知である。さらに、hRSVを感染させたモデル生物、ならびに種特異的RSVを感染させたモデル生物、例えば、畜牛におけるbRSV感染の使用が含まれる、ヒトRSV感染のいくつかのモデルが利用可能である (例えば、Bern et al., Am J, Physiol. Lung Cell Mol. Physiol., 301: L148-L156, 2011を参照されたい)。

20

【0108】

配列同一性：アミノ酸配列間の類似性は、配列間の類似性の観点から表現され、さもなければ配列同一性と呼ばれる。配列同一性は、頻繁に、パーセンテージ同一性 (または類似性もしくは相同性) の観点から測定される；パーセンテージが高くなるほど、2つの配列はより類似している。ポリペプチドのホモログ、オルソログまたはバリエーションは、標準的な方法を使用してアラインさせた場合に、比較的高い程度の配列同一性を保有する。

【0109】

比較のための配列のアラインメントの方法は、当該分野で周知である。種々のプログラムおよびアラインメントアルゴリズムが、Smith & Waterman, Adv. Appl. Math. 2:482, 1981; Needleman & Wunsch, J. Mol. Biol. 48:443, 1970; Pearson & Lipman, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:2444, 1988; Higgins & Sharp, Gene, 73:237-44, 1988; Higgins & Sharp, CABIOS 5:151-3, 1989; Corpet et al., Nuc. Acids Res. 16:10881-90, 1988; Huang et al. Computer Appls. in the Biosciences 8, 155-65, 1992; および Pearson et al., Meth. Mol. Bio. 24:307-31, 1994に記載されている。Altschul et al., J. Mol. Biol. 215:403-10, 1990は、配列アラインメント法および相同性計算の詳細な検討事項を示している。

30

【0110】

アラインされると、マッチの数が、同一なヌクレオチドまたはアミノ酸残基が両方の配列中に存在する位置の数を計数することによって決定される。パーセント配列同一性は、同定された配列中に示される配列の長さまたはつながった長さ (例えば、同定された配列中に示される配列からの100連続するヌクレオチドまたはアミノ酸残基) のいずれかによってマッチの数を除算し、その後、得られた値に100を乗算することによって、決定される。例えば、1554アミノ酸を有する試験配列とアラインさせた場合に1166個のマッチを有するペプチド配列は、試験配列に対して75.0パーセント同一である ($1166 \div 1554 * 100 = 75.0$)。パーセント配列同一性値は、小数第1位に四捨五入される。例えば、75.11、75.12、75.13および75.14は、75.1に四捨五入されるが、75.15、75.16、75.17、75.18および75.

40

50

19は、75.2に四捨五入される。長さ値は常に整数である。

【0111】

NCBI Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) (Altschul et al., J. Mol. Biol. 215:403, 1990)は、配列分析プログラムblastp、blastn、blastx、tblastnおよびtblastxと併せた使用のために、National Center for Biotechnology Information (NCBI, Bethesda, MD)が含まれるいくつかの供給源から、およびインターネット上で入手可能である。このプログラムを使用して配列同一性を決定する方法の記載は、インターネット上でNCBIウェブサイト上で入手可能である。

10

【0112】

ポリペプチドのホモログおよびバリエーションは、典型的には、目的のアミノ酸配列との全長アラインメントにわたって計数された少なくとも約75%、例えば、少なくとも約80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%または99%の配列同一性の保有によって特徴付けられる。参照配列に対するさらに大きい類似性を有するタンパク質は、この方法によって評価した場合、増加していくパーセンテージ同一性、例えば、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98%または少なくとも99%の配列同一性を示す。配列全体未満が配列同一性のために比較される場合、ホモログおよびバリエーションは、典型的には、10~20アミノ酸の短いウィンドウにわたって少なくとも80%の配列同一性を保有し、参照配列に対するそれらの類似性に依存して、少なくとも85%または少なくとも90%もしくは95%の配列同一性を保有し得る。かかる短いウィンドウにわたって配列同一性を決定するための方法は、インターネット上でNCBIウェブサイトにおいて入手可能である。当業者は、これらの配列同一性の範囲が、ガイダンスのためにのみ提供されていることを理解する；提供された範囲の外側に入る強く重要なホモログが得られ得ることが、完全に可能である。

20

【0113】

核酸配列の配列比較のためには、典型的には、1つの配列が、試験配列がそれに対して比較される参照配列として作用する。配列比較アルゴリズムを使用する場合、試験および参照配列がコンピューター中に入力され、部分配列座標が指定され、必要に応じて、配列アルゴリズムプログラムパラメーターが指定される。デフォルトプログラムパラメーターが使用される。比較のための配列のアラインメントの方法は、当該分野で周知である。比較のための配列の最適なアラインメントは、例えば、Smith & Waterman, Adv. Appl. Math. 2:482, 1981の局所相同性アルゴリズムによって、Needleman & Wunsch, J. Mol. Biol. 48:443, 1970の相同性アラインメントアルゴリズムによって、Pearson & Lipman, Proc. Nat'l. Acad. Sci. USA 85:2444, 1988の類似性についての検索法によって、これらのアルゴリズムのコンピューター化されたインプリメンテーションによって (Wisconsin Genetics Software Package, Genetics Computer Group, 575 Science Dr., Madison, WIにおけるGAP, BESTFIT, FASTAおよびTFASTA)、または手動アラインメントおよび目視検査 (例えば、Sambrook et al. (Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 4th ed, Cold Spring Harbor, New York, 2012)およびAusubel et al. (In Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, New York, through supplement 104, 2013)を参照されたい) によって、実施され得る。有用なアルゴリズムの一例は、PILEUPである。PILEUPは、Feng & Doolittle, J. Mol. Evol. 35:351-360, 1987の累進的 (progressive) アラインメント法の単純化を使用する。使用される方法は、Higgins & Sharp, CABIOS 5:151-153, 1989によって記載された方法と類似している。PILEUPを使用すると、参照配列は、以下のパラメーターを使用して、パーセント配列同一性関係

30

40

50

を決定するために、他の試験配列と比較される：デフォルトギャップ重み（3.00）、デフォルトギャップ長さ重み（0.10）、および重み付けされた末端ギャップ。PILEUPは、GCG配列分析ソフトウェアパッケージ、例えば、バージョン7.0から得ることができる（Devereaux et al., Nuc. Acids Res. 12:387-395, 1984）。
【0114】

パーセント配列同一性および配列類似性を決定するために適切なアルゴリズムの別の例は、BLASTおよびBLAST 2.0アルゴリズムであり、これらは、Altschul et al., J. Mol. Biol. 215:403-410, 1990およびAltschul et al., Nucleic Acids Res. 25:3389-3402, 1977に記載されている。BLAST分析を実施するためのソフトウェアは、National Center for Biotechnology Information (ncbi.nlm.nih.gov) を介して公に入手可能である。BLASTNプログラム（ヌクレオチド配列について）は、11のワード長さ（W）、50のアラインメント（B）、10の期待値（E）、 $M=5$ 、 $N=4$ 、ならびに両方の鎖の比較を、デフォルトとして使用する。BLASTPプログラム（アミノ酸配列について）は、3のワード長さ（W）、および10の期待値（E）、およびBLOSUM62スコアリングマトリクスをデフォルトとして使用する（Henikoff & Henikoff, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:10915, 1989を参照されたい）。オリゴヌクレオチドは、長さが最大で約100ヌクレオチド塩基の直鎖ポリヌクレオチド配列である。

【0115】

本明細書で使用される場合、「少なくとも80%の同一性」に対する言及は、特定された参照配列に対する、「少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、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%、またはさらには100%の同一性」を指す。本明細書で使用される場合、「少なくとも90%の同一性」に対する言及は、特定された参照配列に対する、「少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、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%、またはさらには100%の同一性」を指す。

【0116】

特異的に結合する：抗体または抗原結合性断片に言及する場合、タンパク質および他の生物製剤の不均一な集団の存在下で標的タンパク質の存在を決定する結合反応を指す。したがって、指定された条件下で、抗体は、特定の標的タンパク質、ペプチドまたは多糖（例えば、病原体の表面上に存在する抗原、例えば、MPV Fタンパク質）に優先的に結合し、試料または対象中に存在する他のタンパク質には、有意な量では結合しない。特異的結合は、標準的な方法によって決定され得る。特異的免疫反応性を決定するために使用され得るイムノアッセイの形式および条件の記載については、Harlow & Lane, Antibodies, A Laboratory Manual, 2nd ed., Cold Spring Harbor Publications, New York (2013)を参照されたい。

【0117】

抗体-抗原複合体に関して、抗原と抗体との特異的結合は、約 10^{-7} モル濃度未満、例えば、約 10^{-8} モル濃度未満、 10^{-9} 未満、またはさらには約 10^{-10} モル濃度未満の K_D を有する。 K_D は、所与の相互作用、例えば、ポリペプチドリガンド相互作用または抗体抗原相互作用についての解離定数を指す。例えば、抗体または抗原結合性断片と抗原との二分子相互作用について、これは、複合体の濃度によって除算した、二分子相互作用の個々の成分の濃度である。

【0118】

hMPV Fタンパク質上のエピトープに特異的に結合する抗体は、hMPV Fタンパク質を発現する細胞もしくは組織、hMPV Fタンパク質が結合される基材、または生物学的検体中のhMPV Fタンパク質が含まれるhMPV Fタンパク質に実質的に

結合する抗体である。もちろん、ある特定の程度の非特異的相互作用が、抗体と非標的（例えば、hMPV Fタンパク質を発現しない細胞）との間で生じ得ることが認識される。典型的には、特異的結合は、抗体と抗原を欠如するタンパク質または細胞との間よりも、抗体と抗原を保有するタンパク質または細胞との間で、はるかに強い会合を生じる。特異的結合は、典型的には、このエピトープを欠如するタンパク質または細胞もしくは組織と比較して、エピトープを含むタンパク質または標的エピトープを発現する細胞もしくは組織に結合した抗体の量（単位時間当たり）における、2倍よりも大きい、例えば、5倍よりも大きい、10倍よりも大きい、または100倍よりも大きい増加を生じる。かかる条件下でのタンパク質への特異的結合は、特定のタンパク質に対するその特異性について選択された抗体を必要とする。種々のイムノアッセイ形式が、特定のタンパク質と特異的に免疫反応性の抗体または他のリガンドを選択するために適切である。例えば、固相ELISAイムノアッセイは、あるタンパク質と特異的に免疫反応性のモノクローナル抗体を選択するために慣用的に使用される。

10

【0119】

対象：ヒトおよび非ヒト哺乳動物を含むカテゴリーである、生きた多細胞脊椎動物生物。ある例では、対象は、ヒトである。特定の例では、対象は、新生乳児である。追加の例では、hMPV感染の阻害を必要とする対象が選択される。例えば、対象は、hMPVに未感染であり感染のリスク状態にあるか、または感染していて処置を必要とするかのいずれかである。

【0120】

治療有効量：障害または疾患の症状および／または根本原因を予防、処置（予防が含まれる）、低減および／または軽快させるのに、例えば、hMPV感染を予防、阻害および／または処置するのに十分な薬剤、例えば、開示される抗体またはその抗原結合性断片の量。一部の実施形態では、治療有効量は、疾患、例えば、hMPV感染の症状を低減または除外するのに十分である。例えば、これは、ウイルス複製を阻害もしくは予防するのに、またはウイルス感染の表面的な症状を測定可能に変更するのに必要な量であり得る。一般に、この量は、ウイルス複製または感染力を測定可能に阻害するのに十分である。

20

【0121】

一例では、所望の応答は、hMPV感染を阻害または低減または予防することである。方法が有効であるためには、MPV感染が完全に除外または低減または予防される必要はない。例えば、薬剤の治療有効量の投与は、適切な対照と比較して、hMPV感染（例えば、細胞の感染によって、またはhMPVに感染した対象の数もしくはパーセンテージによって測定される）を、所望の量、例えば、少なくとも10%、少なくとも20%、少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも98%、またはさらには少なくとも100%（検出可能なhMPV感染の除外または予防）、減少させることができる。

30

【0122】

薬剤の治療有効量は、単一の用量で、またはいくつかの用量で、例えば、処置（例えば、ブライムブーストワクチン接種処置）の過程の間、毎日投与され得る。しかし、治療有効量は、処置されている対象、処置されている状態の重症度および型、ならびに投与様式に依存し得る。薬剤の単位投薬形態は、例えば、無菌成分を有するバイアル（例えば、穿孔可能な蓋を有する）またはシリンジ中に、1つの治療的用量で、または複数の治療的用量で、包装され得る。

40

【0123】

疾患を処置または予防する：例えば、疾患、例えば、hMPV感染のリスク状態にあるまたはそれを有する対象において、疾患または状態の完全な発症を阻害すること。「処置」は、それが発症し始めた後に疾患または病理学的状態の徴候または症状を軽快させる治療的介入を指す。疾患または病理学的状態に関して、用語「軽快させる」は、処置の任意の観察可能な有益な効果を指す。有益な効果は、例えば、感受性対象における疾患の臨床症状の遅延した開始、疾患の一部または全ての臨床症状の重症度における低減、疾患のよ

50

り緩徐な進行、ウイルス負荷における低減、対象の全般的健康または福祉における改善、あるいは特定の疾患に特異的である当該分野で周知の他のパラメーターによって、証明され得る。「予防的」処置は、病理を発症するリスクを減少させることを目的として、疾患の徴候を示さないまたは初期の徴候のみを示す対象に投与される処置である。

【0124】

用語「低減させる」は、参照薬剤と比較して、薬剤の投与後に疾患または状態が量的に減退される場合、あるいは薬剤の投与後に疾患または状態が減退される場合に、薬剤が疾患または状態を低減させるといった、相対的な用語である。同様に、用語「予防する」は、疾患または状態の少なくとも1つの特徴が除外される限り、薬剤が疾患または状態を完全に除外することを必ずしも意味しない。したがって、感染を低減または予防する組成物は、薬剤の非存在下で、または参照薬剤と比較して、例えば、少なくとも約50%、例えば、少なくとも約70%、もしくは約80%、またはさらには約90%、感染を除外することができるが、感染が測定可能に減退される限り、完全に除外する必要は必ずしもない。

10

【0125】

形質転換された：形質転換された細胞は、分子生物学の技法によって核酸分子が導入された細胞である。本明細書で使用される場合、形質転換されたなど（例えば、形質転換、トランスフェクション、形質導入など）の用語は、ウイルスベクターによる形質導入、プラスミドベクターによる形質転換、ならびに電気穿孔、リポフェクションおよびパーティクルガン加速によるDNAの導入が含まれる、核酸分子がそれによってかかる細胞中に導入され得る全ての技法を包含する。

20

【0126】

ベクター：目的のタンパク質のコード配列に操作的に連結され、コード配列を発現させることができるプロモーター（複数化）を保有する核酸分子（例えば、DNAまたはRNA分子）を含有する実体。非限定的な例には、裸のもしくはパッケージングされた（脂質および／またはタンパク質）DNA、裸のもしくはパッケージングされたRNA、複製インコンピテントであり得るウイルスもしくは細菌もしくは他の微生物のサブ成分、または複製コンピテントであり得るウイルスもしくは細菌もしくは他の微生物が含まれる。ベクターは、構築物と呼ばれる場合がある。組換えDNAベクターは、組換えDNAを有するベクターである。ベクターは、宿主細胞におけるその複製を可能にする核酸配列、例えば、複製起点を含み得る。ベクターは、1つまたは複数の選択可能なマーカー遺伝子および他の遺伝子エレメントもまた含み得る。ウイルスベクターは、1つまたは複数のウイルスに由来する少なくともいくつかの核酸配列を有する組換え核酸ベクターである。一部の実施形態では、ウイルスベクターは、hMPV Fタンパク質に特異的に結合し、hMPVを中和する開示される抗体または抗原結合性断片をコードする核酸分子を含む。

30

【0127】

～に十分な条件下：所望の活性を可能にする任意の環境を記載するために使用される語句。

【0128】

II. いくつかの実施形態の記載

40

hMPV Fタンパク質に特異的に結合する単離されたモノクローナル抗体および抗原結合性断片が提供される。抗体および抗原結合性断片は、完全にヒトであり得る。抗体および抗原結合性断片は、hMPVを中和することができ、例えば、開示される抗体は、hMPV感染をin vivoで阻害することができ、hMPVによる感染の前または後に、投与され得る。抗体および抗原結合性断片と薬学的に許容される担体とを含む組成物もまた、本明細書で開示される。抗体または抗原結合性断片をコードする核酸、これらの核酸を含む発現ベクター（例えば、アデノ随伴ウイルス(AAV)ウイルスベクター）もまた提供される。抗体、抗原結合性断片、核酸分子、宿主細胞および組成物は、研究、診断、処置および予防目的のために使用され得る。例えば、開示される抗体および抗原結合性断片は、対象をhMPV感染と診断するために使用され得る、または対象においてhMP

50

V 感染を阻害するために投与され得る。

【0129】

一部の実施形態では、開示される抗体は、RSV Fタンパク質と交差反応しない。他の実施形態では、これらの抗体は、hMPVの遺伝子型AおよびBの両方を中和する。さらなる実施形態では、開示される抗体は、MPV Fタンパク質の部位IIIに結合する。さらに他の実施形態では、開示される抗体は、融合後Fタンパク質よりも高い親和性で融合前Fタンパク質に結合する。

【0130】

A. hMPV Fタンパク質に特異的に結合するモノクローナル抗体およびその抗原結合性断片

以下のモノクローナル抗体の議論は、IMGT番号付けスキーム（文脈が他を示さない限り）に準拠するCDR1、CDR2および／またはCDR3を含む重鎖および／または軽鎖可変ドメインを含む単離されたモノクローナル抗体（またはその抗原結合性断片）を指す。種々のCDR番号付けスキーム（例えば、Kabatt、ChothiaまたはIMGT番号付けスキーム）が、CDR位置を決定するために使用され得る。IMGT番号付けスキームに従う開示されるモノクローナル抗体の重鎖および軽鎖のアミノ酸配列およびCDRは、配列の表中に提供されるが、これらは例示に過ぎない。

【0131】

一部の実施形態では、本明細書に記載される抗体のいずれか1つの重鎖および軽鎖CDRを含むモノクローナル抗体が提供される。一部の実施形態では、本明細書に記載される抗体のいずれか1つの重鎖および軽鎖可変領域を含むモノクローナル抗体が提供される。

10

20

30

40

50

【表 1 - 1】

表 1. 抗体の IMGT CDR および配列番号

MPV86 V _H			
QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGDTFNDVALSWVRQAPGQGLEWLGGIIPFFGTANY AQRFDQDRVTITADASTSTAYLELGGLRSEDTAVYYCARGWSCRNITCFMMGYIFYIMDVW GQGTLTVSS (配列番号 1)			
V _H	配列番号 1 位置	CDR タンパク質配列	CDR 配列番号
HCDR1	26-33	GDTFNDVA	2
HCDR2	51-58	IIPFFGTA	3
HCDR3	97-119	ARGWSCRNITCFMMGYIFYI MDV	4
MPV86 V _k			
LSLSPGERATLSCRASQSVGNFLAWYQQKPGQTPRLLIQDASNRATGIPARFSGTGSCTDFTL TISSLEPEDFAVYYCQQRSNWPPTFGPGTKVDIK (配列番号 5)			
V _L	配列番号 5 位置	CDR 配列	CDR 配列番号
LCDR1	17-22	QSVGNF	6
LCDR2	40-42	DAS	7
LCDR3	79-87	QQRSNWPPT	8
MPV414 V _H			
QVQLVQSGPEVKKPGSSVMVCKTSGGNFNNFAISWVRQAPGQGLEWMGGIVPIFGTANY AQKSQDRVTITADPSSSTAYLQLSSLTSDDTAIYYCARDLGRSSNYYYYSVFESWGQGTILVT VSS (配列番号 9)			
V _H	配列番号 9 位置	CDR タンパク質配列	CDR 配列番号
HCDR1	26-33	GGNFNNFA	10
HCDR2	51-58	IVPIFGTA	11
HCDR3	97-114	ARDLGRSSNYYYYSVFES	12
MPV414 V _k			
DIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVGDKLAWYQQKPGQAPRLLIYGASTRATDIPARF SGSGSGTEFTLTIVSSLQPEDFAVYYCQYENWPPIFGQGTRLEIK (配列番号 13)			

10

20

30

40

50

【表 1 - 2】

V _L	配列番号 13 位置	CDR 配列	CDR 配列番号
LCDR1	27-32	QSVGDK	14
LCDR2	50-52	GAS	15
LCDR3	89-98	QQYENWPPIT	16
MPV454 V _H EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCSTSGFVFSSYAMHWVRQAPGKGLEHVS AISSTGDNTHYA DSVKGRFTISRDNRSRGLYLQMTSVRPEDAALYYCVKDLYSGRFYYFLDDWGQGTRIIVSS (配列番号 17)			
V _H	配列番号 17 位置	CDR タンパク質配列	CDR 配列番号
HCDR1	26-33	GFVFSSYA	18
HCDR2	51-58	ISSTGDNT	19
HCDR3	97-111	VKDLYSGRFYYFLDD	20
MPV454 V _k DIQVTQSPSSLSASVGDRVTISCRASQNISNYLNWFQQRPGKAPKLLIYVASTLQSGAPSRFS GSGSGTDFLTITDLQPEDFATYYCQSYNTPPITFGQGTREIK (配列番号 21)			
V _L	配列番号 21 位置	CDR 配列	CDR 配列番号
LCDR1	27-32	QNISNY	22
LCDR2	50-52	VAS	23
LCDR3	89-98	QQSYNTPPIT	24
MPV456 V _H QVQLQESGPGVVKPSGTLSTCGVSGGSISSYWWSWVRQPPGKGLEWIGEIYHSGSTNYN PSLKRRVTISVDKSKNQFSLKVTSTAAATAVYYCARGPIQYYDILTEERVGYCDYWGQGT LVTVSS (配列番号 25)			
V _H	配列番号 25 位置	CDR タンパク質配列	CDR 配列番号
HCDR1	26-34	GGSISSSYW	26
HCDR2	52-58	IYHSGST	27
HCDR3	97-117	ARGPIQYYDILTEERVGYCD Y	28
MPV456 V _k TLSASVGDRVTITCRASQSISSWLAWFQKPGKAPKLLIYKTSSLESQVPSRFSGSGSGTEFTL TISSLQPDDFATYYCQEYNSYSRTFGQGTKVEIK (配列番号 29)			
V _L	配列番号 29	CDR タンパク質配列	CDR

10

20

30

40

50

【表 1 - 3】

	位置		配列番号
LCDR1	18-23	QSISSW	30
LCDR2	41-43	KTS	31
LCDR3	80-88	QEYNSYSRT	32
MPV464 V _H QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGGSVRGGGDYWSWIRPPGKGLEWIGHIYNSGTTFY NPSLKSRVTISIDTSKNQFSLKLRSVTAADTAVYYCGRVGSRAATGLPDWIDPWGQGTLVTVS S (配列番号 33)			
V _H	配列番号 33 位置	CDR タンパク質配列	CDR 配列番号
HCDR1	26-35	GGSVRGGGDY	34
HCDR2	53-59	IYNSGTT	35
HCDR3	98-113	GRVGSRAATGLPDWIDP	36
MPV464 V _L SYELTQPPSVSVSPGQTATITCSGTNLGAKYSCWYQQKPGQSPVLVIFQDNKRASGIPARFSA STSGDTATLTISGTQVMDEADYFCQAWDSRTAVFSGGTTTLTVL (配列番号 37)			
V _L	配列番号 37 位置	CDR 配列	CDR 配列番号
LCDR1	26-31	NLGAKY	38
LCDR2	49-51	QDN	39
LCDR3	88-96	QAWDSRTAV	40
MPV467 V _H EVQLVESGGGVVRPGTSLRVSCAAFDNFRDYGGMHWVRQAPGKGLEWVAGIWDGSGNKD YADSVKGRFTISRDNSTLTLYLQMNSLRVEDTAVYYCARDPRTHREGALSHFDSWGQGTLL VTVSS (配列番号 41)			
V _H	配列番号 41 位置	CDR 配列	CDR 配列番号
HCDR1	26-33	DFNFRDYG	42
HCDR2	51-58	IWDGSGNK	43
HCDR3	97-113	ARDPRTHREGALSHFDS	44
MPV467 V _L PNELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRYFAGWYQQKPGQAPLLVLYGENIRPSGIPDRFS GSSSGNTVSLTITGAQAEDEADYYCNSRDNSGNHWVFSGGTRTLTVL (配列番号 45)			
V _L	配列番号 45 位置	CDR タンパク質配列	CDR 配列番号
LCDR1	26-31	SLRNYF	46

10

20

30

40

50

【表 1 - 4】

LCDR2	49-51	GEN	47
LCDR3	88-98	NSRDNSGNHWV	48
MPV477 V _H EVQLVQSGAEVKKPGASVEVSCKTSGYTFTDYYLHWVRQAPGQGLEWMGWINPRSGGTK YGQKFQGRVTMTRDTSISTAYMDLRGLRSDDTAVYYCARAPLLTVYAVAHRSGENRFDPW GQGTIVTVSS (配列番号 49)			
V _H	配列番号 49 位置	CDR 配列	CDR 配列番号
HCDR1	26-33	GYTFTDYY	50
HCDR2	51-58	INPRSGGT	51
HCDR3	97-118	ARAPLLTVYAVAHRSGENRF DP	52
MPV477 V _L QPPSLSGAPGQTVTISCTGSGSNIGAGYDVNWYQCLPGTAPKLLMFDNSNRPSGVPDRFSGS RSGASASLAITGLQAEDVAVYYCQSYDSGLSGWVFGGGTKLTVL (配列番号 53)			
V _H	配列番号 53 位置	CDR タンパク質配列	CDR 配列番号
LCDR1	21-29	GSNIGAGYD	54
LCDR2	47-49	DNS	55
LCDR3	86-96	QSYDSGLSGWV	56
MPV478 V _H EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCNASGYTFTGYYIHWVRQAPGQGLEWMGWINPRSGGTN YAQKFQGRVTLTRDTSITTAYMDVTRLRPDDTAVYYCATTREGIVLMPRGRGDDALDTWG QGTTIVVSS (配列番号 57)			
V _H	配列番号 57 位置	CDR 配列	CDR 配列番号
HCDR1	26-33	GYTFTGYY	58
HCDR2	51-58	INPRSGGT	59
HCDR3	97-117	ATTREGIVLMPRGRGDDALD T	60
MPV478 V _k DIVMTQSPVSLTVSLGERATINCKSSQSVLSTSNNENYLAWYQKPGQPPNLLIWASTRES GVDPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQYFATPITFGPGTKVDVK (配列番号 61)			
V _L	配列番号 61 位置	CDR タンパク質配列	CDR 配列番号
LCDR1	27-38	QSVLSTSNNENY	62

10

20

30

40

50

【表 1 - 5】

LCDR2	56-58	WAS	63
LCDR3	95-103	QQYFATPIT	64
MPV481 V _H EVQLVQSGGGLVKPGGSLRLSCAASGLPFNNAWMNWRQAPGKGLEWVGRIKSKIDGGTT EYAAPVKGRFTISRDDSENTLYLQMNSLRTEDTAVYYCTTEYYALLSGNYSDCWGQGTLV TVSS (配列番号 65)			
V _H	配列番号 65 位置	CDR 配列	CDR 配列番号
HCDR1	26-33	GLPFNNAW	66
HCDR2	51-60	IKSKIDGGTT	67
HCDR3	99-113	TTEYYALLSGNYSDC	68
MPV481 V _k DIVMTQSPFSLSLSPGERATLSCRASQSIKRAYLGWYQQKPGQAPRLLIYGASNRATGIPDRF SGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGDSPGGSFGQGTKLEIR (配列番号 69)			
V _L	配列番号 69 位置	CDR タンパク質配列	CDR 配列番号
LCDR1	27-33	QSIKRAY	70
LCDR2	51-53	GAS	71
LCDR3	90-99	QQYGDSPGGS	72
MPV482 V _H EVQLVQSGGGVVPGRSLRLSCAASGFTFSSFAMHWVRQAPGKGLEWVALISDDGNNKYH ADSVKGRFTISRDSKNTLYLQMNSLRGEDTAVYYCARDGSVVGAAAHCDHWGQGTTLVT VSS (配列番号 73)			
V _H	配列番号 73 位置	CDR タンパク質配列	CDR 配列番号
HCDR1	26-33	GFTFSSFA	74
HCDR2	51-58	ISDDGNNK	75
HCDR3	97-111	ARDGSVVGAAAHCDH	76
MPV482 V _L SYELTQPPSVSVSPGQTARITCSGDALPNQCAWYQQKPLAPVLLIYKDKERPSGIPERFSG SISGTTVTLTISGVQAEDEADYYCQSSDSSSTVVFGGGTKLTVL (配列番号 77)			
V _L	配列番号 77 位置	CDR 配列	CDR 配列番号
LCDR1	26-31	ALPNQC	78
LCDR2	49-51	KDK	79
LCDR3	88-97	QSSDSSSTVV	80

10

20

30

40

50

【表 1 - 6】

MPV483 V _H EVQLVQSGAELKKPGSSVKVSKASGDTFSNYAISWVRQAPGQGLEWMGGIPIYNTANYA QKFQGRVTLTADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARDVRNNWSVLRGARYYYYGMDVW GQGTITVTVSS (配列番号 81)			
V _H	配列番号 81 位置	CDR タンパク質配列	CDR 配列番号
HCDR1	26-33	GDTFSNYA	82
HCDR2	51-58	IPIYNTA	83
HCDR3	97-119	ARDVRNNWSVLRGARYYYY GMDV	84
MPV483 V _k DIVMTQTPFSLASVGDRVTVTCTCRASQDISNSLAWFQKPGKAPKSLIYAASSLQSGVPTRFS GGSGTDFTLTISLQPEDFATFYCLQYDSFPPTFGGGTKVEIK (配列番号 85)			
V _L	配列番号 85 位置	CDR 配列	CDR 配列番号
LCDR1	27-32	QDISNS	86
LCDR2	50-52	AAS	87
LCDR3	89-97	LQYDSFPPT	88
MPV485 V _H EVQLQEPGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSISSTNSFWGWVRQPPGKGLEWIGSIYYSGTTYNS SLKSRVTISVDTSKNQFSLRLSSVTAADTAVYYCARQGLTSSWYDGSGLDVWGRGTKVTVS S (配列番号 89)			
V _H	配列番号 89 位置	CDR タンパク質配列	CDR 配列番号
HCDR1	26-35	GGSISSTNSF	90
HCDR2	53-59	IYYSGTT	91
HCDR3	98-114	ARQGLTSSWYDGSGLDV	92
MPV485 V _L SYELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDKLGKNKYACWYQQRPGQSPVLVIYQDTKRPSGIPERFSG SNSGNTATLTISGTQAMDEADYYCQAWDSNTVVFSGGKTLTVL (配列番号 93)			
V _L	配列番号 93 位置	CDR 配列	CDR 配列番号
LCDR1	26-31	KLGNKY	94
LCDR2	49-51	QDT	95
LCDR3	88-96	QAWDSNTVV	96
MPV486 V _H			

10

20

30

40

50

【表 1 - 7】

EVQLVESGGHLVQSGGSLRLSCAASGFTFSNYILNWVRQAPGKGLEWISYITGGSSAIYYAD SVKGRFTISRDDAKNSLYLQMNNLRAEDTAVYYCARSHGYDSSGYYYYFAMDVWGQGT VTVSS (配列番号 97)			
V _H	配列番号 97 位置	CDR タンパク質配列	CDR 配列番号
HCDR1	26-33	GFTFSNYI	98
HCDR2	51-58	ITGGSSAI	99
HCDR3	97-115	ARSHGYDSSGYYYYFAMDV	100
MPV486 V _L QSVLTQPPSASGTPGQRTVISCSSNSNIESNTVNWYQQIPGTAPKLLIYSDNRRPSGVPDRFS GSKSGTSASLAISGLQSEDEADYYCAAWDDSLIGYVFGTGTKVTV (配列番号 101)			
V _L	配列番号 101 位置	CDR 配列	CDR 配列番号
LCDR1	26-33	NSNIESNT	102
LCDR2	51-53	SDN	103
LCDR3	90-100	AAWDDSLIGYV	104
MPV487 V _H EVQLLESGGGLVQPGRSLRLSCTASGFTFDDYAMHWVRQLPGKGLEWVSGISWNSDNIGY ADSVKGRFTISRDNKGNSLYLQMNSLRAEDTAFYYCAKDVRIDYDLLIGHIDYWGPGTLVT VSS (配列番号 105)			
V _H	配列番号 105 位置	CDR タンパク質配列	CDR 配列番号
HCDR1	26-33	GFTFDDYA	106
HCDR2	51-58	ISWNSDNI	107
HCDR3	97-113	AKDVRIDYDLLIGHIDY	108
MPV487 V _L TQSPVTLSPGERATLSCRASQSFGGYCAWYQQKPGQSPRLLIYDASNRATGVPARFSGSG SGTDFTLTISLPEPDSAVYFCQQRGNWPIFGQGRLEIK (配列番号 109)			
V _L	配列番号 109 位置	CDR 配列	CDR 配列番号
LCDR1	23-28	QSFGGY	110
LCDR2	46-48	DAS	111
LCDR3	85-92	QQRGNWPI	112
MPV488 V _H EVQLVQSGFEVKKPGASVKVSCKASGYNFNYYGISWVRQAPQGGLWGMWISAYTGNTN EAQKFQGRVSMITDTSTAYMEVRSLSDDTAVYYCARDIGSSMFYSYFYGMDVWGQG			

10

20

30

40

50

【表 1 - 8】

TTVIVSS (配列番号 113)			
V _H	配列番号 113 位置	CDR タンパク質配列	CDR 配列番号
HCDR1	26-33	GYNFNNYG	114
HCDR2	51-58	ISAYTGNT	115
HCDR3	97-114	ARDIGSSMFYSYFYGMDV	116
MPV488 V _k SLSVSLGERATINCKSSESVLYNSNNENYLDWYQQKPGQPPKLLIWASTRASGVDPDRFSGS ASGTDFTLTISLQAEDVAVYYCQQYYSTPRTFGQGTKVEIK (配列番号 117)			
V _L	配列番号 117 位置	CDR 配列	CDR 配列番号
LCDR1	18-29	ESVLYNSNNENY	118
LCDR2	47-49	WAS	119
LCDR3	86-94	QQYYSTPRT	120
MPV489 V _H EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASKFTFNMYEMNWLRLQAPGKGLEWVSSISSGDTIHNA DSVKGRFIISRDNANKSLHLQMNGLRAEDTAVYYCARAGSGWAYDAFDIWGLGTMVTVSS (配列番号 121)			
V _H	配列番号 121 位置	CDR タンパク質配列	CDR 配列番号
HCDR1	26-33	KFTFNMYE	122
HCDR2	51-58	ISSSGDTI	123
HCDR3	97-110	ARAGSGWAYDAFDI	124
MPV489 V _k LSASVGDRTVITCRASQSISSFLNWWYQQKPGKAPKLLMYAASSLPVGVPSRFSGSGSGPEYT LTISNLQPEDFATYYCQQGYSSPPTFGGGTRLEVK (配列番号 125)			
V _L	配列番号 125 位置	CDR 配列	CDR 配列番号
LCDR1	17-22	QSISSF	126
LCDR2	40-42	AAS	127
LCDR3	79-87	QQGYSSPPT	128
MPV491 V _H QVQLQESGPGLVKSSQTLSTCTVSGGSISSVTSHWTWIRQHPGKGLEWIGYIFSSGTTYYSP SLRSRLTMSVDTSKNQFSLQLSSVTAADTAMYYCARGIYCGDSCYKGTDYWGRGTLTVSS (配列番号 129)			
V _H	配列番号 129	CDR タンパク質配列	CDR

10

20

30

40

50

【表 1 - 9】

	位置		配列番号
HCDR1	26-31	GGSISS	130
HCDR2	53-59	IFSSGTT	131
HCDR3	98-113	ARGIYCGDSCYKGTDY	132
MPV491 V _k IRLMTQTPVTLPTVPGEFASISCRSSQSLLSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYRGSTRASGV PDRFSGSGSGTEFTLKISRVEAEDVGVYYCMQGLQTPYTFGQGTKLESR (配列番号 133)			
V _L	配列番号 133 位置	CDR 配列	CDR 配列番号
LCDR1	27-37	QSLLSNGYNY	134
LCDR2	55-57	RGS	135
LCDR3	94-102	MQGLQTPYT	136
MPV503 V _H EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSSYTFSWVRQAPGQGLEWMGGIIPFGTANYA QKFQDRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCARGRVVVIASHYYYYDMDVWGQGT TVTVSS (配列番号 137)			
V _H	配列番号 137 位置	CDR タンパク質配列	CDR 配列番号
HCDR1	26-33	GGTFSSYT	138
HCDR2	51-58	IPIFGTA	139
HCDR3	97-115	ARGRVVVIASHYYYYDMDV	140
MPV503 V _k VSLSVSPGERATLSCRASQSVSSNLAWYQQKPGQAPRLLIYGASTRATGIPARFSGSGSGTEF TLTISSLQSEDFAVYYCQQYDNWPPLTFGGGTKVEIK (配列番号 141)			
V _L	配列番号 141 位置	CDR 配列	CDR 配列番号
LCDR1	19-24	QSVSSN	142
LCDR2	42-44	GAS	143
LCDR3	81-90	QQYDNWPPLT	144

10

20

30

【 0 1 3 2 】

a. モノクローナル抗体 M P V 8 6

一部の実施形態では、抗体または抗原結合性断片は、M P V 8 6 抗体に基づくかまたはそれに由来し、h M P V F タンパク質に特異的に結合し、h M P V を中和する。

【 0 1 3 3 】

一部の例では、抗体または抗原結合性断片は、M P V 8 6 抗体のそれぞれ H C D R 1、H C D R 2、H C D R 3、L C D R 1、L C D R 2 および L C D R 3 (例えば、I M G T、K a b a t または C h o t h i a に従う) を含む V_H および V_L を含み、h M P V F タンパク質に特異的に結合し、h M P V を中和する。

【 0 1 3 4 】

一部の実施形態では、抗体または抗原結合性断片は、配列番号 1 として示されるアミノ酸配列に対して少なくとも 90% (例えば、少なくとも 95%、少なくとも 96%、少な

40

50

くとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%)同一なアミノ酸配列を含むV_Hを含み、hMPV Fタンパク質に特異的に結合し、hMPVを中和する。より多くの実施形態では、抗体または抗原結合性断片は、配列番号5として示されるアミノ酸配列に対して少なくとも90%(例えば、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%)同一なアミノ酸配列を含むV_Lを含み、hMPV Fタンパク質に特異的に結合し、hMPVを中和する。追加の実施形態では、抗体または抗原結合性断片は、それぞれ配列番号1および5として示されるアミノ酸配列に対して少なくとも90%(例えば、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%)同一なアミノ酸配列を独立して含むV_HおよびV_Lを含み、hMPV Fタンパク質に特異的に結合し、hMPVを中和する。

10

【0135】

一部の実施形態では、抗体または抗原結合性断片は、それぞれ配列番号2、3および4として示されるHCDR1、HCDR2およびHCDR3を含むV_H、ならびに／またはそれぞれ配列番号6、7および8として示されるLCDR1、LCDR2およびLCDR3を含むV_Lを含み、hMPV Fタンパク質に特異的に結合し、hMPVを中和する。

【0136】

一部の実施形態では、抗体または抗原結合性断片は、それぞれ配列番号2、3および4として示されるHCDR1、HCDR2およびHCDR3を含むV_H、それぞれ配列番号6、7および8として示されるLCDR1、LCDR2およびLCDR3を含むV_Lを含み、V_Hは、配列番号1に対して少なくとも90%同一なアミノ酸配列、例えば、配列番号1に対して95%、96%、97%、98%または99%同一なアミノ酸配列を含み、V_Lは、配列番号5に対して少なくとも90%同一なアミノ酸配列、例えば、配列番号5に対して95%、96%、97%、98%または99%同一なアミノ酸配列を含み、抗体または抗原結合性断片は、hMPV Fタンパク質に特異的に結合し、hMPVを中和する。この実施形態では、配列同一性に起因するバリエーションは、CDRの外側にある。

20

【0137】

一部の実施形態では、抗体または抗原結合性断片は、配列番号1として示されるアミノ酸配列を含むV_Hを含み、hMPV Fタンパク質に特異的に結合し、hMPVを中和する。より多くの実施形態では、抗体または抗原結合性断片は、配列番号5として示されるアミノ酸配列を含むV_Lを含み、hMPV Fタンパク質に特異的に結合し、hMPVを中和する。一部の実施形態では、抗体または抗原結合性断片は、それぞれ配列番号1および5として示されるアミノ酸配列を含むV_HおよびV_Lを含み、hMPV Fタンパク質に特異的に結合し、hMPVを中和する。

30

【0138】

b. モノクローナル抗体MPV414

一部の実施形態では、抗体または抗原結合性断片は、MPV414抗体に基づくかまたはそれに由来し、hMPV Fタンパク質に特異的に結合し、hMPVを中和する。一部の例では、抗体または抗原結合性断片は、MPV414抗体のそれぞれHCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2およびLCDR3(例えば、IMGT、KabatまたはChothiaに従う)を含むV_HおよびV_Lを含み、hMPV Fタンパク質に特異的に結合し、hMPVを中和する。

40

【0139】

一部の実施形態では、抗体または抗原結合性断片は、配列番号9として示されるアミノ酸配列に対して少なくとも90%(例えば、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%)同一なアミノ酸配列を含むV_Hを含み、hMPV Fタンパク質に特異的に結合し、hMPVを中和する。より多くの実施形態では、抗体または抗原結合性断片は、配列番号13として示されるアミノ酸配列に対して少なくとも90%(例えば、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%)同一なアミノ酸配列を含むV_Lを含

50

み、hMPV Fタンパク質に特異的に結合し、hMPVを中和する。追加の実施形態では、抗体または抗原結合性断片は、それぞれ配列番号9および13として示されるアミノ酸配列に対して少なくとも90%（例えば、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%）同一なアミノ酸配列を独立して含むV_HおよびV_Lを含み、hMPV Fタンパク質に特異的に結合し、hMPVを中和する。

【0140】

一部の実施形態では、抗体または抗原結合性断片は、それぞれ配列番号10、11および12として示されるHCDR1、HCDR2およびHCDR3を含むV_H、ならびに／またはそれぞれ配列番号14、15および16として示されるLCDR1、LCDR2およびLCDR3を含むV_Lを含み、hMPV Fタンパク質に特異的に結合し、hMPVを中和する。

10

【0141】

一部の実施形態では、抗体または抗原結合性断片は、それぞれ配列番号10、11および12として示されるHCDR1、HCDR2およびHCDR3を含むV_H、それぞれ配列番号14、15および16として示されるLCDR1、LCDR2およびLCDR3を含むV_Lを含み、V_Hは、配列番号9に対して少なくとも90%同一なアミノ酸配列、例えば、配列番号9に対して95%、96%、97%、98%または99%同一なアミノ酸配列を含み、V_Lは、配列番号13に対して少なくとも90%同一なアミノ酸配列、例えば、配列番号13に対して95%、96%、97%、98%または99%同一なアミノ酸配列を含み、抗体または抗原結合性断片は、hMPV Fタンパク質に特異的に結合し、hMPVを中和する。この実施形態では、配列同一性に起因するバリエーションは、CDRの外側にある。

20

【0142】

一部の実施形態では、抗体または抗原結合性断片は、配列番号9として示されるアミノ酸配列を含むV_Hを含み、hMPV Fタンパク質に特異的に結合し、hMPVを中和する。より多くの実施形態では、抗体または抗原結合性断片は、配列番号13として示されるアミノ酸配列を含むV_Lを含み、hMPV Fタンパク質に特異的に結合し、hMPVを中和する。一部の実施形態では、抗体または抗原結合性断片は、それぞれ配列番号9および13として示されるアミノ酸配列を含むV_HおよびV_Lを含み、hMPV Fタンパク質に特異的に結合し、hMPVを中和する。

30

【0143】

c. モノクローナル抗体MPV454

一部の実施形態では、抗体または抗原結合性断片は、MPV454抗体に基づくかまたはそれに由来し、hMPV Fタンパク質に特異的に結合し、hMPVを中和する。

【0144】

一部の例では、抗体または抗原結合性断片は、MPV454抗体のそれぞれHCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2およびLCDR3（例えば、IMGT、KabattまたはChothiaに従う）を含むV_HおよびV_Lを含み、hMPV Fタンパク質に特異的に結合し、hMPVを中和する。

40

【0145】

一部の実施形態では、抗体または抗原結合性断片は、配列番号17として示されるアミノ酸配列に対して少なくとも90%（例えば、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%）同一なアミノ酸配列を含むV_Hを含み、hMPV Fタンパク質に特異的に結合し、hMPVを中和する。より多くの実施形態では、抗体または抗原結合性断片は、配列番号21として示されるアミノ酸配列に対して少なくとも90%（例えば、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%）同一なアミノ酸配列を含むV_Lを含み、hMPV Fタンパク質に特異的に結合し、hMPVを中和する。追加の実施形態では、抗体または抗原結合性断片は、それぞれ配列番号17および21として示されるア

50

ミノ酸配列に対して少なくとも90%（例えば、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%）同一なアミノ酸配列を独立して含むV_HおよびV_Lを含み、hMPV Fタンパク質に特異的に結合し、hMPVを中和する。

【0146】

一部の実施形態では、抗体または抗原結合性断片は、それぞれ配列番号18、19および20として示されるHCDR1、HCDR2およびHCDR3を含むV_H、ならびに／またはそれぞれ配列番号22、23および24として示されるLCDR1、LCDR2およびLCDR3を含むV_Lを含み、hMPV Fタンパク質に特異的に結合し、hMPVを中和する。

10

【0147】

一部の実施形態では、抗体または抗原結合性断片は、それぞれ配列番号18、19および20として示されるHCDR1、HCDR2およびHCDR3を含むV_H、それぞれ配列番号22、23および24として示されるLCDR1、LCDR2およびLCDR3を含むV_Lを含み、V_Hは、配列番号17に対して少なくとも90%同一なアミノ酸配列、例えば、配列番号17に対して95%、96%、97%、98%または99%同一なアミノ酸配列を含み、V_Lは、配列番号21に対して少なくとも90%同一なアミノ酸配列、例えば、配列番号21に対して95%、96%、97%、98%または99%同一なアミノ酸配列を含み、抗体または抗原結合性断片は、hMPV Fタンパク質に特異的に結合し、hMPVを中和する。この実施形態では、配列同一性に起因するバリエーションは、CDRの外側にある。

20

【0148】

一部の実施形態では、抗体または抗原結合性断片は、配列番号17として示されるアミノ酸配列を含むV_Hを含み、hMPV Fタンパク質に特異的に結合し、hMPVを中和する。より多くの実施形態では、抗体または抗原結合性断片は、配列番号21として示されるアミノ酸配列を含むV_Lを含み、hMPV Fタンパク質に特異的に結合し、hMPVを中和する。一部の実施形態では、抗体または抗原結合性断片は、それぞれ配列番号17および21として示されるアミノ酸配列を含むV_HおよびV_Lを含み、hMPV Fタンパク質に特異的に結合し、hMPVを中和する。

【0149】

30

d. モノクローナル抗体MPV456

一部の実施形態では、抗体または抗原結合性断片は、MPV456抗体に基づくかまたはそれに由来し、hMPV Fタンパク質に特異的に結合し、hMPVを中和する。

【0150】

一部の例では、抗体または抗原結合性断片は、MPV456抗体のそれぞれHCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2およびLCDR3（例えば、IMGT、KabattまたはChothiaに従う）を含むV_HおよびV_Lを含み、hMPV Fタンパク質に特異的に結合し、hMPVを中和する。

【0151】

一部の実施形態では、抗体または抗原結合性断片は、配列番号25として示されるアミノ酸配列に対して少なくとも90%（例えば、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%）同一なアミノ酸配列を含むV_Hを含み、hMPV Fタンパク質に特異的に結合し、hMPVを中和する。より多くの実施形態では、抗体または抗原結合性断片は、配列番号29として示されるアミノ酸配列に対して少なくとも90%（例えば、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%）同一なアミノ酸配列を含むV_Lを含み、hMPV Fタンパク質に特異的に結合し、hMPVを中和する。追加の実施形態では、抗体または抗原結合性断片は、それぞれ配列番号25および29として示されるアミノ酸配列に対して少なくとも90%（例えば、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%）同一なアミノ酸配列を独

40

50

立して含む V_H および V_L を含み、hMPV Fタンパク質に結合し、hMPVを中和する。

【0152】

一部の実施形態では、抗体または抗原結合性断片は、それぞれ配列番号26、27および28として示されるHCDR1、HCDR2およびHCDR3を含む V_H 、ならびに／またはそれぞれ配列番号30、31および32として示されるLCDR1、LCDR2およびLCDR3を含む V_L を含み、hMPV Fタンパク質に特異的に結合し、hMPVを中和する。

【0153】

一部の実施形態では、抗体または抗原結合性断片は、それぞれ配列番号26、27および28として示されるHCDR1、HCDR2およびHCDR3を含む V_H 、それぞれ配列番号30、31および32として示されるLCDR1、LCDR2およびLCDR3を含む V_L を含み、 V_H は、配列番号25に対して少なくとも90%同一なアミノ酸配列、例えば、配列番号25に対して95%、96%、97%、98%または99%同一なアミノ酸配列を含み、 V_L は、配列番号29に対して少なくとも90%同一なアミノ酸配列、例えば、配列番号29に対して95%、96%、97%、98%または99%同一なアミノ酸配列を含み、抗体または抗原結合性断片は、hMPV Fタンパク質に特異的に結合し、hMPVを中和する。この実施形態では、配列同一性に起因するバリエーションは、CDRの外側にある。

【0154】

一部の実施形態では、抗体または抗原結合性断片は、配列番号25として示されるアミノ酸配列を含む V_H を含み、hMPV Fタンパク質に特異的に結合し、hMPVを中和する。より多くの実施形態では、抗体または抗原結合性断片は、配列番号29として示されるアミノ酸配列を含む V_L を含み、hMPV Fタンパク質に特異的に結合し、hMPVを中和する。一部の実施形態では、抗体または抗原結合性断片は、それぞれ配列番号25および29として示されるアミノ酸配列を含む V_H および V_L を含み、hMPV Fタンパク質に特異的に結合し、hMPVを中和する。

【0155】

e. モノクローナル抗体MPV464

一部の実施形態では、抗体または抗原結合性断片は、MPV464抗体に基づくかまたはそれに由来し、hMPV Fタンパク質に特異的に結合し、hMPVを中和する。

【0156】

一部の例では、抗体または抗原結合性断片は、MPV464抗体のそれぞれHCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2およびLCDR3（例えば、IMGT、KabattまたはChothiaに従う）を含む V_H および V_L を含み、hMPV Fタンパク質に特異的に結合し、hMPVを中和する。

【0157】

一部の実施形態では、抗体または抗原結合性断片は、配列番号33として示されるアミノ酸配列に対して少なくとも90%（例えば、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%）同一なアミノ酸配列を含む V_H を含み、hMPV Fタンパク質に特異的に結合し、hMPVを中和する。より多くの実施形態では、抗体または抗原結合性断片は、配列番号37として示されるアミノ酸配列に対して少なくとも90%（例えば、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%）同一なアミノ酸配列を含む V_L を含み、hMPV Fタンパク質に特異的に結合し、hMPVを中和する。追加の実施形態では、抗体または抗原結合性断片は、それぞれ配列番号33および37として示されるアミノ酸配列に対して少なくとも90%（例えば、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%）同一なアミノ酸配列を独立して含む V_H および V_L を含み、hMPV Fタンパク質に結合し、hMPVを中和する。

【0158】

一部の実施形態では、抗体または抗原結合性断片は、それぞれ配列番号34、35および36として示されるHCDR1、HCDR2およびHCDR3を含むV_H、ならびに／またはそれぞれ配列番号38、39および40として示されるLCDR1、LCDR2およびLCDR3を含むV_Lを含み、hMPV Fタンパク質に特異的に結合し、hMPVを中和する。

【0159】

一部の実施形態では、抗体または抗原結合性断片は、それぞれ配列番号34、35および36として示されるHCDR1、HCDR2およびHCDR3を含むV_H、それぞれ配列番号38、39および40として示されるLCDR1、LCDR2およびLCDR3を含むV_Lを含み、V_Hは、配列番号33に対して少なくとも90%同一なアミノ酸配列、例えば、配列番号33に対して95%、96%、97%、98%または99%同一なアミノ酸配列を含み、V_Lは、配列番号37に対して少なくとも90%同一なアミノ酸配列、例えば、配列番号37に対して95%、96%、97%、98%または99%同一なアミノ酸配列を含み、抗体または抗原結合性断片は、hMPV Fタンパク質に特異的に結合し、hMPVを中和する。この実施形態では、配列同一性に起因するバリエーションは、CDRの外側にある。

【0160】

一部の実施形態では、抗体または抗原結合性断片は、配列番号33として示されるアミノ酸配列を含むV_Hを含み、hMPV Fタンパク質に特異的に結合し、hMPVを中和する。より多くの実施形態では、抗体または抗原結合性断片は、配列番号37として示されるアミノ酸配列を含むV_Lを含み、hMPV Fタンパク質に特異的に結合し、hMPVを中和する。一部の実施形態では、抗体または抗原結合性断片は、それぞれ配列番号33および37として示されるアミノ酸配列を含むV_HおよびV_Lを含み、hMPV Fタンパク質に特異的に結合し、hMPVを中和する。

【0161】

f. モノクローナル抗体MPV467

一部の実施形態では、抗体または抗原結合性断片は、MPV467抗体に基づくかまたはそれに由来し、hMPV Fタンパク質に特異的に結合し、hMPVを中和する。

【0162】

一部の例では、抗体または抗原結合性断片は、MPV467抗体のそれぞれHCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2およびLCDR3（例えば、IMGT、KabattまたはChothiaに従う）を含むV_HおよびV_Lを含み、hMPV Fタンパク質に特異的に結合し、hMPVを中和する。

【0163】

一部の実施形態では、抗体または抗原結合性断片は、配列番号41として示されるアミノ酸配列に対して少なくとも90%（例えば、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%）同一なアミノ酸配列を含むV_Hを含み、hMPV Fタンパク質に特異的に結合し、hMPVを中和する。より多くの実施形態では、抗体または抗原結合性断片は、配列番号45として示されるアミノ酸配列に対して少なくとも90%（例えば、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%）同一なアミノ酸配列を含むV_Lを含み、hMPV Fタンパク質に特異的に結合し、hMPVを中和する。追加の実施形態では、抗体または抗原結合性断片は、それぞれ配列番号41および45として示されるアミノ酸配列に対して少なくとも90%（例えば、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%）同一なアミノ酸配列を独立して含むV_HおよびV_Lを含み、hMPV Fタンパク質に結合し、hMPVを中和する。

【0164】

一部の実施形態では、抗体または抗原結合性断片は、それぞれ配列番号42、43およ

び 4 4 として示される H C D R 1、H C D R 2 および H C D R 3 を含む V_H、ならびに／またはそれぞれ配列番号 4 6、4 7 および 4 8 として示される L C D R 1、L C D R 2 および L C D R 3 を含む V_L を含み、h M P V F タンパク質に特異的に結合し、h M P V を中和する。

【0165】

一部の実施形態では、抗体または抗原結合性断片は、それぞれ配列番号 4 2、4 3 および 4 4 として示される H C D R 1、H C D R 2 および H C D R 3 を含む V_H、それぞれ配列番号 4 6、4 7 および 4 8 として示される L C D R 1、L C D R 2 および L C D R 3 を含む V_L を含み、V_H は、配列番号 4 1 に対して少なくとも 9 0 % 同一なアミノ酸配列、例えば、配列番号 4 1 に対して 9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 % または 9 9 % 同一なアミノ酸配列を含み、V_L は、配列番号 4 5 に対して少なくとも 9 0 % 同一なアミノ酸配列、例えば、配列番号 4 5 に対して 9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 % または 9 9 % 同一なアミノ酸配列を含み、抗体または抗原結合性断片は、h M P V F タンパク質に特異的に結合し、h M P V を中和する。この実施形態では、配列同一性に起因するバリエーションは、C D R の外側にある。

【0166】

一部の実施形態では、抗体または抗原結合性断片は、配列番号 4 1 として示されるアミノ酸配列を含む V_H を含み、h M P V F タンパク質に特異的に結合し、h M P V を中和する。より多くの実施形態では、抗体または抗原結合性断片は、配列番号 4 5 として示されるアミノ酸配列を含む V_L を含み、h M P V F タンパク質に特異的に結合し、h M P V を中和する。一部の実施形態では、抗体または抗原結合性断片は、それぞれ配列番号 4 1 および 4 5 として示されるアミノ酸配列を含む V_H および V_L を含み、h M P V F タンパク質に特異的に結合し、h M P V を中和する。

【0167】

g. モノクローナル抗体 M P V 4 7 7

一部の実施形態では、抗体または抗原結合性断片は、M P V 4 7 7 抗体に基づくかまたはそれに由来し、h M P V F タンパク質に特異的に結合し、h M P V を中和する。

【0168】

一部の例では、抗体または抗原結合性断片は、M P V 4 7 7 抗体のそれぞれ H C D R 1、H C D R 2、H C D R 3、L C D R 1、L C D R 2 および L C D R 3（例えば、I M G T、K a b a t または C h o t h i a に従う）を含む V_H および V_L を含み、h M P V F タンパク質に特異的に結合し、h M P V を中和する。

【0169】

一部の実施形態では、抗体または抗原結合性断片は、配列番号 4 9 として示されるアミノ酸配列に対して少なくとも 9 0 %（例えば、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 % または少なくとも 9 9 %）同一なアミノ酸配列を含む V_H を含み、h M P V F タンパク質に特異的に結合し、h M P V を中和する。より多くの実施形態では、抗体または抗原結合性断片は、配列番号 5 3 として示されるアミノ酸配列に対して少なくとも 9 0 %（例えば、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 % または少なくとも 9 9 %）同一なアミノ酸配列を含む V_L を含み、h M P V F タンパク質に特異的に結合し、h M P V を中和する。追加の実施形態では、抗体または抗原結合性断片は、それぞれ配列番号 4 9 および 5 3 として示されるアミノ酸配列に対して少なくとも 9 0 %（例えば、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 % または少なくとも 9 9 %）同一なアミノ酸配列を独立して含む V_H および V_L を含み、h M P V F タンパク質に結合し、h M P V を中和する。

【0170】

一部の実施形態では、抗体または抗原結合性断片は、それぞれ配列番号 5 0、5 1 および 5 2 として示される H C D R 1、H C D R 2 および H C D R 3 を含む V_H、ならびに／またはそれぞれ配列番号 5 4、5 5 および 5 6 として示される L C D R 1、L C D R 2 お

よび L C D R 3 を含む V_L を含み、h M P V F タンパク質に特異的に結合し、h M P V を中和する。

【0171】

一部の実施形態では、抗体または抗原結合性断片は、それぞれ配列番号 50、51 および 52 として示される H C D R 1、H C D R 2 および H C D R 3 を含む V_H、それぞれ配列番号 54、55 および 56 として示される L C D R 1、L C D R 2 および L C D R 3 を含む V_L を含み、V_H は、配列番号 49 に対して少なくとも 90% 同一なアミノ酸配列、例えば、配列番号 49 に対して 95%、96%、97%、98% または 99% 同一なアミノ酸配列を含み、V_L は、配列番号 53 に対して少なくとも 90% 同一なアミノ酸配列、例えば、配列番号 53 に対して 95%、96%、97%、98% または 99% 同一なアミノ酸配列を含み、抗体または抗原結合性断片は、h M P V F タンパク質に特異的に結合し、h M P V を中和する。この実施形態では、配列同一性に起因するバリエーションは、C D R の外側にある。

10

【0172】

一部の実施形態では、抗体または抗原結合性断片は、配列番号 49 として示されるアミノ酸配列を含む V_H を含み、h M P V F タンパク質に特異的に結合し、h M P V を中和する。より多くの実施形態では、抗体または抗原結合性断片は、配列番号 53 として示されるアミノ酸配列を含む V_L を含み、h M P V F タンパク質に特異的に結合し、h M P V を中和する。一部の実施形態では、抗体または抗原結合性断片は、それぞれ配列番号 49 および 53 として示されるアミノ酸配列を含む V_H および V_L を含み、h M P V F タンパク質に特異的に結合し、h M P V を中和する。

20

【0173】

h. モノクローナル抗体 M P V 478

一部の実施形態では、抗体または抗原結合性断片は、M P V 478 抗体に基づくかまたはそれに由来し、h M P V F タンパク質に特異的に結合し、h M P V を中和する。

【0174】

一部の例では、抗体または抗原結合性断片は、M P V 478 抗体のそれぞれ H C D R 1、H C D R 2、H C D R 3、L C D R 1、L C D R 2 および L C D R 3（例えば、I M G T、K a b a t または C h o t h i a に従う）を含む V_H および V_L を含み、h M P V F タンパク質に特異的に結合し、h M P V を中和する。

30

【0175】

一部の実施形態では、抗体または抗原結合性断片は、配列番号 57 として示されるアミノ酸配列に対して少なくとも 90%（例えば、少なくとも 95%、少なくとも 96%、少なくとも 97%、少なくとも 98% または少なくとも 99%）同一なアミノ酸配列を含む V_H を含み、h M P V F タンパク質に特異的に結合し、h M P V を中和する。より多くの実施形態では、抗体または抗原結合性断片は、配列番号 61 として示されるアミノ酸配列に対して少なくとも 90%（例えば、少なくとも 95%、少なくとも 96%、少なくとも 97%、少なくとも 98% または少なくとも 99%）同一なアミノ酸配列を含む V_L を含み、h M P V F タンパク質に特異的に結合し、h M P V を中和する。追加の実施形態では、抗体または抗原結合性断片は、それぞれ配列番号 57 および 61 として示されるアミノ酸配列に対して少なくとも 90%（例えば、少なくとも 95%、少なくとも 96%、少なくとも 97%、少なくとも 98% または少なくとも 99%）同一なアミノ酸配列を独立して含む V_H および V_L を含み、h M P V F タンパク質に結合し、h M P V を中和する。

40

【0176】

一部の実施形態では、抗体または抗原結合性断片は、それぞれ配列番号 58、59 および 60 として示される H C D R 1、H C D R 2 および H C D R 3 を含む V_H、ならびに／またはそれぞれ配列番号 62、63 および 64 として示される L C D R 1、L C D R 2 および L C D R 3 を含む V_L を含み、h M P V F タンパク質に特異的に結合し、h M P V を中和する。

50

【0177】

一部の実施形態では、抗体または抗原結合性断片は、それぞれ配列番号58、59および60として示されるHCDR1、HCDR2およびHCDR3を含むV_H、それぞれ配列番号62、63および64として示されるLCDR1、LCDR2およびLCDR3を含むV_Lを含み、V_Hは、配列番号57に対して少なくとも90%同一なアミノ酸配列、例えば、配列番号57に対して95%、96%、97%、98%または99%同一なアミノ酸配列を含み、V_Lは、配列番号61に対して少なくとも90%同一なアミノ酸配列、例えば、配列番号61に対して95%、96%、97%、98%または99%同一なアミノ酸配列を含み、抗体または抗原結合性断片は、hMPV Fタンパク質に特異的に結合し、hMPVを中和する。この実施形態では、配列同一性に起因するバリエーションは、CDRの外側にある。

10

【0178】

一部の実施形態では、抗体または抗原結合性断片は、配列番号57として示されるアミノ酸配列を含むV_Hを含み、hMPV Fタンパク質に特異的に結合し、hMPVを中和する。より多くの実施形態では、抗体または抗原結合性断片は、配列番号61として示されるアミノ酸配列を含むV_Lを含み、hMPV Fタンパク質に特異的に結合し、hMPVを中和する。一部の実施形態では、抗体または抗原結合性断片は、それぞれ配列番号57および61として示されるアミノ酸配列を含むV_HおよびV_Lを含み、hMPV Fタンパク質に特異的に結合し、hMPVを中和する。

20

【0179】

i. モノクローナル抗体MPV481

一部の実施形態では、抗体または抗原結合性断片は、MPV481抗体に基づくかまたはそれに由来し、hMPV Fタンパク質に特異的に結合し、hMPVを中和する。

【0180】

一部の例では、抗体または抗原結合性断片は、MPV481抗体のそれぞれHCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2およびLCDR3（例えば、IMGT、KabatまたはChothiaに従う）を含むV_HおよびV_Lを含み、hMPV Fタンパク質に特異的に結合し、hMPVを中和する。

【0181】

一部の実施形態では、抗体または抗原結合性断片は、配列番号65として示されるアミノ酸配列に対して少なくとも90%（例えば、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%）同一なアミノ酸配列を含むV_Hを含み、hMPV Fタンパク質に特異的に結合し、hMPVを中和する。より多くの実施形態では、抗体または抗原結合性断片は、配列番号69として示されるアミノ酸配列に対して少なくとも90%（例えば、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%）同一なアミノ酸配列を含むV_Lを含み、hMPV Fタンパク質に特異的に結合し、hMPVを中和する。追加の実施形態では、抗体または抗原結合性断片は、それぞれ配列番号65および69として示されるアミノ酸配列に対して少なくとも90%（例えば、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%）同一なアミノ酸配列を独立して含むV_HおよびV_Lを含み、hMPV Fタンパク質に結合し、hMPVを中和する。

30

40

【0182】

一部の実施形態では、抗体または抗原結合性断片は、それぞれ配列番号66、67および68として示されるHCDR1、HCDR2およびHCDR3を含むV_H、ならびに／またはそれぞれ配列番号70、71および72として示されるLCDR1、LCDR2およびLCDR3を含むV_Lを含み、hMPV Fタンパク質に特異的に結合し、hMPVを中和する。

【0183】

一部の実施形態では、抗体または抗原結合性断片は、それぞれ配列番号66、67およ

50

び68として示されるHCDR1、HCDR2およびHCDR3を含むV_H、それぞれ配列番号70、71および72として示されるLCDR1、LCDR2およびLCDR3を含むV_Lを含み、V_Hは、配列番号65に対して少なくとも90%同一なアミノ酸配列、例えば、配列番号65に対して95%、96%、97%、98%または99%同一なアミノ酸配列を含み、V_Lは、配列番号69に対して少なくとも90%同一なアミノ酸配列、例えば、配列番号69に対して95%、96%、97%、98%または99%同一なアミノ酸配列を含み、抗体または抗原結合性断片は、hMPV Fタンパク質に特異的に結合し、hMPVを中和する。この実施形態では、配列同一性に起因するバリエーションは、CDRの外側にある。

【0184】

10

一部の実施形態では、抗体または抗原結合性断片は、配列番号65として示されるアミノ酸配列を含むV_Hを含み、hMPV Fタンパク質に特異的に結合し、hMPVを中和する。より多くの実施形態では、抗体または抗原結合性断片は、配列番号69として示されるアミノ酸配列を含むV_Lを含み、hMPV Fタンパク質に特異的に結合し、hMPVを中和する。一部の実施形態では、抗体または抗原結合性断片は、それぞれ配列番号65および69として示されるアミノ酸配列を含むV_HおよびV_Lを含み、hMPV Fタンパク質に特異的に結合し、hMPVを中和する。

【0185】

j. モノクローナル抗体MPV482

一部の実施形態では、抗体または抗原結合性断片は、MPV482抗体に基づくかまたはそれに由来し、hMPV Fタンパク質に特異的に結合し、hMPVを中和する。

20

【0186】

一部の例では、抗体または抗原結合性断片は、MPV482抗体のそれぞれHCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2およびLCDR3（例えば、IMGT、KababatまたはChothiaに従う）を含むV_HおよびV_Lを含み、hMPV Fタンパク質に特異的に結合し、hMPVを中和する。

【0187】

一部の実施形態では、抗体または抗原結合性断片は、配列番号73として示されるアミノ酸配列に対して少なくとも90%（例えば、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%）同一なアミノ酸配列を含むV_Hを含み、hMPV Fタンパク質に特異的に結合し、hMPVを中和する。より多くの実施形態では、抗体または抗原結合性断片は、配列番号77として示されるアミノ酸配列に対して少なくとも90%（例えば、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%）同一なアミノ酸配列を含むV_Lを含み、hMPV Fタンパク質に特異的に結合し、hMPVを中和する。追加の実施形態では、抗体または抗原結合性断片は、それぞれ配列番号73および77として示されるアミノ酸配列に対して少なくとも90%（例えば、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%）同一なアミノ酸配列を独立して含むV_HおよびV_Lを含み、hMPV Fタンパク質に結合し、hMPVを中和する。

30

40

【0188】

一部の実施形態では、抗体または抗原結合性断片は、それぞれ配列番号74、75および76として示されるHCDR1、HCDR2およびHCDR3を含むV_H、ならびに／またはそれぞれ配列番号78、79および80として示されるLCDR1、LCDR2およびLCDR3を含むV_Lを含み、hMPV Fタンパク質に特異的に結合し、hMPVを中和する。

【0189】

一部の実施形態では、抗体または抗原結合性断片は、それぞれ配列番号74、75および76として示されるHCDR1、HCDR2およびHCDR3を含むV_H、それぞれ配列番号78、79および80として示されるLCDR1、LCDR2およびLCDR3を

50

含む V_L を含み、 V_H は、配列番号 73 に対して少なくとも 90% 同一なアミノ酸配列、例えば、配列番号 73 に対して 95%、96%、97%、98% または 99% 同一なアミノ酸配列を含み、 V_L は、配列番号 77 に対して少なくとも 90% 同一なアミノ酸配列、例えば、配列番号 77 に対して 95%、96%、97%、98% または 99% 同一なアミノ酸配列を含み、抗体または抗原結合性断片は、hMPV F タンパク質に特異的に結合し、hMPV を中和する。この実施形態では、配列同一性に起因するバリエーションは、CDR の外側にある。

【0190】

一部の実施形態では、抗体または抗原結合性断片は、配列番号 73 として示されるアミノ酸配列を含む V_H を含み、hMPV F タンパク質に特異的に結合し、hMPV を中和する。より多くの実施形態では、抗体または抗原結合性断片は、配列番号 77 として示されるアミノ酸配列を含む V_L を含み、hMPV F タンパク質に特異的に結合し、hMPV を中和する。一部の実施形態では、抗体または抗原結合性断片は、それぞれ配列番号 73 および 77 として示されるアミノ酸配列を含む V_H および V_L を含み、hMPV F タンパク質に特異的に結合し、hMPV を中和する。

【0191】

k. モノクローナル抗体 MPV 483

一部の実施形態では、抗体または抗原結合性断片は、MPV 483 抗体に基づくかまたはそれに由来し、hMPV F タンパク質に特異的に結合し、hMPV を中和する。

【0192】

一部の例では、抗体または抗原結合性断片は、MPV 483 抗体のそれぞれ HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2 および LCDR3（例えば、IMGT、Kabatt または Chothia に従う）を含む V_H および V_L を含み、hMPV F タンパク質に特異的に結合し、hMPV を中和する。

【0193】

一部の実施形態では、抗体または抗原結合性断片は、配列番号 81 として示されるアミノ酸配列に対して少なくとも 90%（例えば、少なくとも 95%、少なくとも 96%、少なくとも 97%、少なくとも 98% または少なくとも 99%）同一なアミノ酸配列を含む V_H を含み、hMPV F タンパク質に特異的に結合し、hMPV を中和する。より多くの実施形態では、抗体または抗原結合性断片は、配列番号 85 として示されるアミノ酸配列に対して少なくとも 90%（例えば、少なくとも 95%、少なくとも 96%、少なくとも 97%、少なくとも 98% または少なくとも 99%）同一なアミノ酸配列を含む V_L を含み、hMPV F タンパク質に特異的に結合し、hMPV を中和する。追加の実施形態では、抗体または抗原結合性断片は、それぞれ配列番号 81 および 85 として示されるアミノ酸配列に対して少なくとも 90%（例えば、少なくとも 95%、少なくとも 96%、少なくとも 97%、少なくとも 98% または少なくとも 99%）同一なアミノ酸配列を独立して含む V_H および V_L を含み、hMPV F タンパク質に結合し、hMPV を中和する。

【0194】

一部の実施形態では、抗体または抗原結合性断片は、それぞれ配列番号 82、83 および 84 として示される HCDR1、HCDR2 および HCDR3 を含む V_H 、ならびに／またはそれぞれ配列番号 86、87 および 88 として示される LCDR1、LCDR2 および LCDR3 を含む V_L を含み、hMPV F タンパク質に特異的に結合し、hMPV を中和する。

【0195】

一部の実施形態では、抗体または抗原結合性断片は、それぞれ配列番号 82、83 および 84 として示される HCDR1、HCDR2 および HCDR3 を含む V_H 、それぞれ配列番号 86、87 および 88 として示される LCDR1、LCDR2 および LCDR3 を含む V_L を含み、 V_H は、配列番号 81 に対して少なくとも 90% 同一なアミノ酸配列、例えば、配列番号 81 に対して 95%、96%、97%、98% または 99% 同一なアミ

10

20

30

40

50

10

20

30

40

50

一部の実施形態では、抗体または抗原結合性断片は、それぞれ配列番号 90、91 および 92 として示される HCDR1、HCDR2 および HCDR3 を含む V_H、それぞれ配列番号 94、95 および 96 として示される LCDR1、LCDR2 および LCDR3 を含む V_L を含み、V_H は、配列番号 89 に対して少なくとも 90% 同一なアミノ酸配列、例えば、配列番号 89 に対して 95%、96%、97%、98% または 99% 同一なアミノ酸配列を含み、V_L は、配列番号 93 に対して少なくとも 90% 同一なアミノ酸配列、例えば、配列番号 93 に対して 95%、96%、97%、98% または 99% 同一なアミノ酸配列を含む。

ノ酸配列を含み、抗体または抗原結合性断片は、hMPV Fタンパク質に特異的に結合し、hMPVを中和する。この実施形態では、配列同一性に起因するバリエーションは、CDRの外側にある。

【0202】

一部の実施形態では、抗体または抗原結合性断片は、配列番号89として示されるアミノ酸配列を含むV_Hを含み、hMPV Fタンパク質に特異的に結合し、hMPVを中和する。より多くの実施形態では、抗体または抗原結合性断片は、配列番号93として示されるアミノ酸配列を含むV_Lを含み、hMPV Fタンパク質に特異的に結合し、hMPVを中和する。一部の実施形態では、抗体または抗原結合性断片は、それぞれ配列番号89および93として示されるアミノ酸配列を含むV_HおよびV_Lを含み、hMPV Fタンパク質に特異的に結合し、hMPVを中和する。

10

【0203】

m. モノクローナル抗体MPV486

一部の実施形態では、抗体または抗原結合性断片は、MPV486抗体に基づくかまたはそれに由来し、hMPV Fタンパク質に特異的に結合し、hMPVを中和する。

【0204】

一部の例では、抗体または抗原結合性断片は、MPV486抗体のそれぞれHC_{DR}1、HC_{DR}2、HC_{DR}3、LC_{DR}1、LC_{DR}2およびLC_{DR}3（例えば、IMGT、KabattまたはChothiaに従う）を含むV_HおよびV_Lを含み、hMPV Fタンパク質に特異的に結合し、hMPVを中和する。

20

【0205】

一部の実施形態では、抗体または抗原結合性断片は、配列番号97として示されるアミノ酸配列に対して少なくとも90%（例えば、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%）同一なアミノ酸配列を含むV_Hを含み、hMPV Fタンパク質に特異的に結合し、hMPVを中和する。より多くの実施形態では、抗体または抗原結合性断片は、配列番号101として示されるアミノ酸配列に対して少なくとも90%（例えば、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%）同一なアミノ酸配列を含むV_Lを含み、hMPV Fタンパク質に特異的に結合し、hMPVを中和する。追加の実施形態では、抗体または抗原結合性断片は、それぞれ配列番号97および101として示されるアミノ酸配列に対して少なくとも90%（例えば、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%）同一なアミノ酸配列を独立して含むV_HおよびV_Lを含み、hMPV Fタンパク質に結合し、hMPVを中和する。

30

【0206】

一部の実施形態では、抗体または抗原結合性断片は、それぞれ配列番号98、99および100として示されるHC_{DR}1、HC_{DR}2およびHC_{DR}3を含むV_H、ならびに／またはそれぞれ配列番号102、103および104として示されるLC_{DR}1、LC_{DR}2およびLC_{DR}3を含むV_Lを含み、hMPV Fタンパク質に特異的に結合し、hMPVを中和する。

40

【0207】

一部の実施形態では、抗体または抗原結合性断片は、それぞれ配列番号98、99および100として示されるHC_{DR}1、HC_{DR}2およびHC_{DR}3を含むV_H、それぞれ配列番号102、103および104として示されるLC_{DR}1、LC_{DR}2およびLC_{DR}3を含むV_Lを含み、V_Hは、配列番号97に対して少なくとも90%同一なアミノ酸配列、例えば、配列番号97に対して95%、96%、97%、98%または99%同一なアミノ酸配列を含み、V_Lは、配列番号101に対して少なくとも90%同一なアミノ酸配列、例えば、配列番号101に対して95%、96%、97%、98%または99%同一なアミノ酸配列を含み、抗体または抗原結合性断片は、hMPV Fタンパク質に特異的に結合し、hMPVを中和する。この実施形態では、配列同一性に起因するバリエ

50

ーションは、C D Rの外側にある。

【0208】

一部の実施形態では、抗体または抗原結合性断片は、配列番号97として示されるアミノ酸配列を含むV_Hを含み、hMPV Fタンパク質に特異的に結合し、hMPVを中和する。より多くの実施形態では、抗体または抗原結合性断片は、配列番号101として示されるアミノ酸配列を含むV_Lを含み、hMPV Fタンパク質に特異的に結合し、hMPVを中和する。一部の実施形態では、抗体または抗原結合性断片は、それぞれ配列番号97および101として示されるアミノ酸配列を含むV_HおよびV_Lを含み、hMPV Fタンパク質に特異的に結合し、hMPVを中和する。

【0209】

n. モノクローナル抗体MPV487

一部の実施形態では、抗体または抗原結合性断片は、MPV487抗体に基づくかまたはそれに由来し、hMPV Fタンパク質に特異的に結合し、hMPVを中和する。

【0210】

一部の例では、抗体または抗原結合性断片は、MPV487抗体のそれぞれHC DR1、HC DR2、HC DR3、LC DR1、LC DR2およびLC DR3（例えば、IMGT、KabatまたはChothiaに従う）を含むV_HおよびV_Lを含み、hMPV Fタンパク質に特異的に結合し、hMPVを中和する。

【0211】

一部の実施形態では、抗体または抗原結合性断片は、配列番号105として示されるアミノ酸配列に対して少なくとも90%（例えば、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%）同一なアミノ酸配列を含むV_Hを含み、hMPV Fタンパク質に特異的に結合し、hMPVを中和する。より多くの実施形態では、抗体または抗原結合性断片は、配列番号109として示されるアミノ酸配列に対して少なくとも90%（例えば、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%）同一なアミノ酸配列を含むV_Lを含み、hMPV Fタンパク質に特異的に結合し、hMPVを中和する。追加の実施形態では、抗体または抗原結合性断片は、それぞれ配列番号105および109として示されるアミノ酸配列に対して少なくとも90%（例えば、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%）同一なアミノ酸配列を独立して含むV_HおよびV_Lを含み、hMPV Fタンパク質に結合し、hMPVを中和する。

【0212】

一部の実施形態では、抗体または抗原結合性断片は、それぞれ配列番号106、107および108として示されるHC DR1、HC DR2およびHC DR3を含むV_H、ならびに／またはそれぞれ配列番号110、111および112として示されるLC DR1、LC DR2およびLC DR3を含むV_Lを含み、hMPV Fタンパク質に特異的に結合し、hMPVを中和する。

【0213】

一部の実施形態では、抗体または抗原結合性断片は、それぞれ配列番号106、107および108として示されるHC DR1、HC DR2およびHC DR3を含むV_H、それぞれ配列番号110、111および112として示されるLC DR1、LC DR2およびLC DR3を含むV_Lを含み、V_Hは、配列番号105に対して少なくとも90%同一なアミノ酸配列、例えば、配列番号105に対して95%、96%、97%、98%または99%同一なアミノ酸配列を含み、V_Lは、配列番号109に対して少なくとも90%同一なアミノ酸配列、例えば、配列番号109に対して95%、96%、97%、98%または99%同一なアミノ酸配列を含み、抗体または抗原結合性断片は、hMPV Fタンパク質に特異的に結合し、hMPVを中和する。この実施形態では、配列同一性に起因するバリエーションは、C D Rの外側にある。

【0214】

一部の実施形態では、抗体または抗原結合性断片は、配列番号105として示されるアミノ酸配列を含むV_Hを含み、hMPV Fタンパク質に特異的に結合し、hMPVを中和する。より多くの実施形態では、抗体または抗原結合性断片は、配列番号109として示されるアミノ酸配列を含むV_Lを含み、hMPV Fタンパク質に特異的に結合し、hMPVを中和する。一部の実施形態では、抗体または抗原結合性断片は、それぞれ配列番号105および109として示されるアミノ酸配列を含むV_HおよびV_Lを含み、hMPV Fタンパク質に特異的に結合し、hMPVを中和する。

【0215】

o. モノクローナル抗体MPV488

一部の実施形態では、抗体または抗原結合性断片は、MPV488抗体に基づくかまたはそれに由来し、hMPV Fタンパク質に特異的に結合し、hMPVを中和する。

【0216】

一部の例では、抗体または抗原結合性断片は、MPV488抗体のそれぞれHCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2およびLCDR3（例えば、IMGT、KabattまたはChothiaに従う）を含むV_HおよびV_Lを含み、hMPV Fタンパク質に特異的に結合し、hMPVを中和する。

【0217】

一部の実施形態では、抗体または抗原結合性断片は、配列番号113として示されるアミノ酸配列に対して少なくとも90%（例えば、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%）同一なアミノ酸配列を含むV_Hを含み、hMPV Fタンパク質に特異的に結合し、hMPVを中和する。より多くの実施形態では、抗体または抗原結合性断片は、配列番号117として示されるアミノ酸配列に対して少なくとも90%（例えば、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%）同一なアミノ酸配列を含むV_Lを含み、hMPV Fタンパク質に特異的に結合し、hMPVを中和する。追加の実施形態では、抗体または抗原結合性断片は、それぞれ配列番号113および117として示されるアミノ酸配列に対して少なくとも90%（例えば、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%）同一なアミノ酸配列を独立して含むV_HおよびV_Lを含み、hMPV Fタンパク質に結合し、hMPVを中和する。

【0218】

一部の実施形態では、抗体または抗原結合性断片は、それぞれ配列番号114、115および116として示されるHCDR1、HCDR2およびHCDR3を含むV_H、ならびに／またはそれぞれ配列番号118、119および120として示されるLCDR1、LCDR2およびLCDR3を含むV_Lを含み、hMPV Fタンパク質に特異的に結合し、hMPVを中和する。

【0219】

一部の実施形態では、抗体または抗原結合性断片は、それぞれ配列番号114、115および116として示されるHCDR1、HCDR2およびHCDR3を含むV_H、それぞれ配列番号118、119および120として示されるLCDR1、LCDR2およびLCDR3を含むV_Lを含み、V_Hは、配列番号113に対して少なくとも90%同一なアミノ酸配列、例えば、配列番号113に対して95%、96%、97%、98%または99%同一なアミノ酸配列を含み、V_Lは、配列番号117に対して少なくとも90%同一なアミノ酸配列、例えば、配列番号117に対して95%、96%、97%、98%または99%同一なアミノ酸配列を含み、抗体または抗原結合性断片は、hMPV Fタンパク質に特異的に結合し、hMPVを中和する。この実施形態では、配列同一性に起因するバリエーションは、CDRの外側にある。

【0220】

一部の実施形態では、抗体または抗原結合性断片は、配列番号113として示されるアミノ酸配列を含むV_Hを含み、hMPV Fタンパク質に特異的に結合し、hMPVを中

10

20

30

40

50

和する。より多くの実施形態では、抗体または抗原結合性断片は、配列番号 117 として示されるアミノ酸配列を含む V_L を含み、hMPV F タンパク質に特異的に結合し、hMPV を中和する。一部の実施形態では、抗体または抗原結合性断片は、それぞれ配列番号 113 および 117 として示されるアミノ酸配列を含む V_H および V_L を含み、hMPV F タンパク質に特異的に結合し、hMPV を中和する。

【0221】

p. モノクローナル抗体 MPV 489

一部の実施形態では、抗体または抗原結合性断片は、MPV 489 抗体に基づくかまたはそれに由来し、hMPV F タンパク質に特異的に結合し、hMPV を中和する。

【0222】

一部の例では、抗体または抗原結合性断片は、MPV 489 抗体のそれぞれ HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2 および LCDR3（例えば、IMGT、Kabatt または Chothia に従う）を含む V_H および V_L を含み、hMPV F タンパク質に特異的に結合し、hMPV を中和する。

【0223】

一部の実施形態では、抗体または抗原結合性断片は、配列番号 121 として示されるアミノ酸配列に対して少なくとも 90%（例えば、少なくとも 95%、少なくとも 96%、少なくとも 97%、少なくとも 98% または少なくとも 99%）同一なアミノ酸配列を含む V_H を含み、hMPV F タンパク質に特異的に結合し、hMPV を中和する。より多くの実施形態では、抗体または抗原結合性断片は、配列番号 125 として示されるアミノ酸配列に対して少なくとも 90%（例えば、少なくとも 95%、少なくとも 96%、少なくとも 97%、少なくとも 98% または少なくとも 99%）同一なアミノ酸配列を含む V_L を含み、hMPV F タンパク質に特異的に結合し、hMPV を中和する。追加の実施形態では、抗体または抗原結合性断片は、それぞれ配列番号 121 および 125 として示されるアミノ酸配列に対して少なくとも 90%（例えば、少なくとも 95%、少なくとも 96%、少なくとも 97%、少なくとも 98% または少なくとも 99%）同一なアミノ酸配列を独立して含む V_H および V_L を含み、hMPV F タンパク質に特異的に結合し、hMPV を中和する。

【0224】

一部の実施形態では、抗体または抗原結合性断片は、それぞれ配列番号 122、123 および 124 として示される HCDR1、HCDR2 および HCDR3 を含む V_H 、ならびに／またはそれぞれ配列番号 126、127 および 128 として示される LCDR1、LCDR2 および LCDR3 を含む V_L を含み、hMPV F タンパク質に特異的に結合し、hMPV を中和する。

【0225】

一部の実施形態では、抗体または抗原結合性断片は、それぞれ配列番号 122、123 および 124 として示される HCDR1、HCDR2 および HCDR3 を含む V_H 、それぞれ配列番号 126、127 および 128 として示される LCDR1、LCDR2 および LCDR3 を含む V_L を含み、 V_H は、配列番号 121 に対して少なくとも 90% 同一なアミノ酸配列、例えば、配列番号 121 に対して 95%、96%、97%、98% または 99% 同一なアミノ酸配列を含み、 V_L は、配列番号 125 に対して少なくとも 90% 同一なアミノ酸配列、例えば、配列番号 125 に対して 95%、96%、97%、98% または 99% 同一なアミノ酸配列を含み、抗体または抗原結合性断片は、hMPV F タンパク質に特異的に結合し、hMPV を中和する。この実施形態では、配列同一性に起因するバリエーションは、CDR の外側にある。

【0226】

一部の実施形態では、抗体または抗原結合性断片は、配列番号 121 として示されるアミノ酸配列を含む V_H を含み、hMPV F タンパク質に特異的に結合し、hMPV を中和する。より多くの実施形態では、抗体または抗原結合性断片は、配列番号 125 として示されるアミノ酸配列を含む V_L を含み、hMPV F タンパク質に特異的に結合し、h

10

20

30

40

50

MPVを中和する。一部の実施形態では、抗体または抗原結合性断片は、それぞれ配列番号121および125として示されるアミノ酸配列を含むV_HおよびV_Lを含み、hMPV Fタンパク質に特異的に結合し、hMPVを中和する。

【0227】

q. モノクローナル抗体MPV491

一部の実施形態では、抗体または抗原結合性断片は、MPV491抗体に基づくかまたはそれに由来し、hMPV Fタンパク質に特異的に結合し、hMPVを中和する。

【0228】

一部の例では、抗体または抗原結合性断片は、MPV491抗体のそれぞれHCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2およびLCDR3（例えば、IMGT、KabattまたはChothiaに従う）を含むV_HおよびV_Lを含み、hMPV Fタンパク質に特異的に結合し、hMPVを中和する。

【0229】

一部の実施形態では、抗体または抗原結合性断片は、配列番号129として示されるアミノ酸配列に対して少なくとも90%（例えば、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%）同一なアミノ酸配列を含むV_Hを含み、hMPV Fタンパク質に特異的に結合し、hMPVを中和する。より多くの実施形態では、抗体または抗原結合性断片は、配列番号133として示されるアミノ酸配列に対して少なくとも90%（例えば、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%）同一なアミノ酸配列を含むV_Lを含み、hMPV Fタンパク質に特異的に結合し、hMPVを中和する。追加の実施形態では、抗体または抗原結合性断片は、それぞれ配列番号129および133として示されるアミノ酸配列に対して少なくとも90%（例えば、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%）同一なアミノ酸配列を独立して含むV_HおよびV_Lを含み、hMPV Fタンパク質に特異的に結合し、hMPVを中和する。

【0230】

一部の実施形態では、抗体または抗原結合性断片は、それぞれ配列番号130、131および132として示されるHCDR1、HCDR2およびHCDR3を含むV_H、ならびに／またはそれぞれ配列番号134、135および136として示されるLCDR1、LCDR2およびLCDR3を含むV_Lを含み、hMPV Fタンパク質に特異的に結合し、hMPVを中和する。

【0231】

一部の実施形態では、抗体または抗原結合性断片は、それぞれ配列番号130、131および132として示されるHCDR1、HCDR2およびHCDR3を含むV_H、それぞれ配列番号134、135および136として示されるLCDR1、LCDR2およびLCDR3を含むV_Lを含み、V_Hは、配列番号129に対して少なくとも90%同一なアミノ酸配列、例えば、配列番号129に対して95%、96%、97%、98%または99%同一なアミノ酸配列を含み、V_Lは、配列番号133に対して少なくとも90%同一なアミノ酸配列、例えば、配列番号133に対して95%、96%、97%、98%または99%同一なアミノ酸配列を含み、抗体または抗原結合性断片は、hMPV Fタンパク質に特異的に結合し、hMPVを中和する。この実施形態では、配列同一性に起因するバリエーションは、CDRの外側にある。

【0232】

一部の実施形態では、抗体または抗原結合性断片は、配列番号129として示されるアミノ酸配列を含むV_Hを含み、hMPV Fタンパク質に特異的に結合し、hMPVを中和する。より多くの実施形態では、抗体または抗原結合性断片は、配列番号133として示されるアミノ酸配列を含むV_Lを含み、hMPV Fタンパク質に特異的に結合し、hMPVを中和する。一部の実施形態では、抗体または抗原結合性断片は、それぞれ配列番号129および133として示されるアミノ酸配列を含むV_HおよびV_Lを含み、hMP

V Fタンパク質に特異的に結合し、hMPVを中和する。

【0233】

r. モノクローナル抗体MPV503

一部の実施形態では、抗体または抗原結合性断片は、MPV503抗体に基づくかまたはそれに由来し、hMPV Fタンパク質に特異的に結合し、hMPVを中和する。

【0234】

一部の例では、抗体または抗原結合性断片は、MPV503抗体のそれぞれHCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2およびLCDR3（例えば、IMGT、KabattまたはChothiaに従う）を含むV_HおよびV_Lを含み、hMPV Fタンパク質に特異的に結合し、hMPVを中和する。

10

【0235】

一部の実施形態では、抗体または抗原結合性断片は、配列番号137として示されるアミノ酸配列に対して少なくとも90%（例えば、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%）同一なアミノ酸配列を含むV_Hを含み、hMPV Fタンパク質に特異的に結合し、hMPVを中和する。より多くの実施形態では、抗体または抗原結合性断片は、配列番号141として示されるアミノ酸配列に対して少なくとも90%（例えば、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%）同一なアミノ酸配列を含むV_Lを含み、hMPV Fタンパク質に特異的に結合し、hMPVを中和する。追加の実施形態では、抗体または抗原結合性断片は、それぞれ配列番号137および141として示されるアミノ酸配列に対して少なくとも90%（例えば、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%）同一なアミノ酸配列を独立して含むV_HおよびV_Lを含み、hMPV Fタンパク質に特異的に結合し、hMPVを中和する。

20

【0236】

一部の実施形態では、抗体または抗原結合性断片は、それぞれ配列番号138、139および140として示されるHCDR1、HCDR2およびHCDR3を含むV_H、ならびに／またはそれぞれ配列番号142、143および144として示されるLCDR1、LCDR2およびLCDR3を含むV_Lを含み、hMPV Fタンパク質に特異的に結合し、hMPVを中和する。

30

【0237】

一部の実施形態では、抗体または抗原結合性断片は、それぞれ配列番号138、139および140として示されるHCDR1、HCDR2およびHCDR3を含むV_H、それぞれ配列番号142、143および144として示されるLCDR1、LCDR2およびLCDR3を含むV_Lを含み、V_Hは、配列番号137に対して少なくとも90%同一なアミノ酸配列、例えば、配列番号137に対して95%、96%、97%、98%または99%同一なアミノ酸配列を含み、V_Lは、配列番号141に対して少なくとも90%同一なアミノ酸配列、例えば、配列番号141に対して95%、96%、97%、98%または99%同一なアミノ酸配列を含み、抗体または抗原結合性断片は、hMPV Fタンパク質に特異的に結合し、hMPVを中和する。この実施形態では、配列同一性に起因するバリエーションは、CDRの外側にある。

40

【0238】

一部の実施形態では、抗体または抗原結合性断片は、配列番号137として示されるアミノ酸配列を含むV_Hを含み、hMPV Fタンパク質に特異的に結合し、hMPVを中和する。より多くの実施形態では、抗体または抗原結合性断片は、配列番号141として示されるアミノ酸配列を含むV_Lを含み、hMPV Fタンパク質に特異的に結合し、hMPVを中和する。一部の実施形態では、抗体または抗原結合性断片は、それぞれ配列番号137および141として示されるアミノ酸配列を含むV_HおよびV_Lを含み、hMPV Fタンパク質に特異的に結合し、hMPVを中和する。

【0239】

50

1. MPV Fタンパク質上のMP467エピトープに結合する追加の抗体

MPV467がhMPV Fタンパク質を標的とすることが本明細書で開示され、この抗体は、融合後Fタンパク質よりも高い親和性で融合前Fタンパク質に結合する。MPV467の結合ポーズが開示され、具体的には、これは、単一のプロトマー上の抗原性部位IIおよびVが重なり合った融合前特異的エピトープに結合する。MPV467が結合する抗原性部位II内に位置するヘリックス-ターン-ヘリックス ($\alpha 6 \sim \alpha 7$) は、融合前状態と融合後状態との間でコンフォメーション変化を受けない。したがって、一部の実施形態では、MPV467が結合するhMPV Fタンパク質上のエピトープに特異的に結合する抗体または抗原結合性断片が提供され、この抗体は、RSV Fタンパク質と交差反応しない。他の実施形態では、開示される抗体のいずれかが結合するhMPV Fタンパク質上のエピトープに特異的に結合する抗体または抗原結合性断片が提供される。

10

【0240】

一部の例では、目的のエピトープに結合する抗体は、結合アッセイにおいて、例えば、本明細書で提供されるMPV467抗体と交差競合する（例えば、統計的に有意な様式で、その結合を競合的に阻害する）それらの能力に基づいて、同定され得る。他の例では、目的のエピトープに結合する抗体は、結合アッセイにおいて、本明細書で提供されるMPV467抗体と、または開示される抗体のいずれかと交差競合する（例えば、統計的に有意な様式で、その結合を競合的に阻害する）それらの能力に基づいて、同定され得る。

【0241】

MPV467抗体が結合するまたは開示される抗体のいずれかが結合するのと同じhMPV Fタンパク質上のエピトープに結合するヒト抗体は、任意の適切な方法を使用して産生され得る。かかる抗体は、例えば、抗原チャレンジに応答してインタクトなヒト抗体またはヒト可変領域を有するインタクトな抗体を産生するように改変されたトランスジェニック動物に免疫原を投与することによって、調製され得る。かかる動物は、典型的には、内因性免疫グロブリン遺伝子座を置き換える、または染色体外に存在するもしくは動物の染色体中にランダムに組み込まれたヒト免疫グロブリン遺伝子座の全てまたは一部分を含有する。かかるトランスジェニックマウスでは、内因性免疫グロブリン遺伝子座は一般に、不活性化されている。トランスジェニック動物からヒト抗体を得るための方法の総説については、Lonberg, Nat. Biotech. 23:1117-1125 (2005)を参照されたい。例えば、XENOMOUSE（商標）技術を記載する米国特許第6,075,181号および同第6,150,584号；HUMAB（登録商標）技術を記載する米国特許第5,770,429号；K-MOUSE（登録商標）技術を記載する米国特許第7,041,870号、ならびにVELOCIMOUSE（登録商標）技術を記載する米国特許出願公開第2007/0061900号もまた参照されたい。かかる動物によって生成されたインタクトな抗体由来のヒト可変領域は、例えば、異なるヒト定常領域と組み合わせることによって、さらに改変され得る。

20

30

【0242】

MPV467抗体が結合するまたは開示される抗体のいずれかが結合するのと同じhMPV Fタンパク質上のエピトープに結合するヒト抗体は、ハイブリドーマベースの方法によっても作製され得る。ヒトモノクローナル抗体の産生のためのヒト骨髓腫およびマウス-ヒトヘテロ骨髓腫 (heteromyeloma) 細胞系は、記載されている（例えば、Kozbor J. Immunol., 133: 3001 (1984); Brodeur et al., Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications, pp. 51-63 (Marcel Dekker, Inc., New York, 1987); およびBoerner et al., J. Immunol., 147: 86 (1991)を参照されたい）。ヒトB細胞ハイブリドーマ技術を介して生成されるヒト抗体は、Li et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 103:3557-3562 (2006)にも記載されている。追加の方法には、例えば、米国特許第7,189,826号（ハイブリドーマ細胞系からのモノクローナルヒトIgM抗体の産生を記載している）およびNi, Xiandai Mianyixue, 26(4):265-268 (2006)（ヒト-ヒトハイブリドーマを記載している）に記載されるものが含まれる。ヒトハイブリド-

40

50

マ技術（トリオーマ（Trioma）技術）は、Vollmers and Brandlein, *Histology and Histopathology*, 20(3):927-937 (2005)およびVollmers and Brandlein, *Methods and Findings in Experimental and Clinical Pharmacology*, 27(3): 185-91 (2005)にも記載されている。ヒト抗体は、ヒト由来ファージディスプレイライブラリーから選択されるFvクローン可変ドメイン配列を単離することによっても生成され得る。次いで、かかる可変ドメイン配列は、所望のヒト定常ドメインと組み合わせられ得る。

【0243】

MPV467抗体が結合するのと同じhMPV Fタンパク質上のエピトープに特異的に結合するまたは開示される抗体のいずれかが結合するのと同じhMPV Fタンパク質上のエピトープに結合する抗体および抗原結合性断片は、所望の結合特徴を有する抗体についてコンビナトリアルライブラリーをスクリーニングすることによって、例えば、ファージディスプレイライブラリーを生成し、所望の結合特徴を保有する抗体についてかかるライブラリーをスクリーニングすることによっても、単離され得る。かかる方法は、例えば、Hoogenboom et al. in *Methods in Molecular Biology* 178:1-37 (O'Brien et al., ed., Human Press, Totowa, N.J., 2001)で概説され、例えば、McCafferty et al., *Nature* 348:552-554; Clackson et al., *Nature* 352: 624-628 (1991); Marks et al., *J. Mol. Biol.* 222: 581-597 (1992); Marks and Bradbury, in *Methods in Molecular Biology* 248:161-175 (Lo, ed., Human Press, Totowa, N.J., 2003); Sidhu et al., *J. Mol. Biol.* 338(2): 299-310 (2004); Lee et al., *J. Mol. Biol.* 340(5): 1073-1093 (2004); Fellouse, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 101(34): 12467-12472 (2004); およびLee et al., *J. Immunol. Methods* 284(1-2): 119-132 (2004)にさらに記載されている。

【0244】

ある特定のファージディスプレイ法では、Winter et al., *Ann. Rev. Immunol.*, 12: 433-455 (1994)に記載されるように、V_HおよびV_L遺伝子のレパートリーは、ポリメラーゼ連鎖反応（PCR）によって別々にクローニングされ、ファージライブラリー中でランダムに組換えられ、このライブラリーは次いで、抗原結合性ファージについてスクリーニングされ得る。ファージは、典型的には、抗体断片を、単鎖Fv（scFv）断片またはFab断片のいずれかとしてディスプレイする。免疫化された供給源からのライブラリーは、ハイブリドーマを構築する必要なしに、免疫原に対する高親和性抗体を提供する。あるいは、ナイーブレパートリーは、Griffiths et al., *EMBO J.*, 12: 725-734 (1993)に記載されるように、いずれの免疫化もなしに、広範な非自己およびまた自己抗原に対する抗体の単一の供給源を提供するために、（例えば、ヒトから）クローニングされ得る。最後に、ナイーブライブラリーは、Hoogenboom and Winter, *J. Mol. Biol.*, 227: 381-388 (1992)に記載されるように、再編成されていないV遺伝子セグメントを幹細胞からクローニングすること、および高度に可変性のCDR3領域をコードし、再編成を*in vitro*で達成するためのランダム配列を含有するPCRプライマーを使用することによって、合成によっても作製され得る。ヒト抗体ファージライブラリーを記載する特許公報には、例えば、以下が含まれる：米国特許第5,750,373号、ならびに米国特許出願公開第2005/0079574号、同第2005/0119455号、同第2005/0266000号、同第2007/0117126号、同第2007/0160598号、同第2007/0237764号、同第2007/0292936号および同2009/0002360号。

【0245】

2. 抗体および抗原結合性断片の追加の記載

抗体または抗原結合性断片は、ヒト抗体またはその断片であり得る。キメラ抗体もまた提供される。抗体または抗原結合性断片は、任意の適切なフレームワーク領域、例えば（それらに限定されないが）、別の供給源由来のヒトフレームワーク領域、または最適化さ

れたフレームワーク領域を含み得る。あるいは、例えば、マウスまたはサルのフレームワーク領域であるがこれらに限定されない異種フレームワーク領域が、抗体の重鎖または軽鎖中に含められ得る。

【0246】

抗体は、任意のアイソタイプのものであり得る。抗体は、例えば、IgMまたはIgG抗体、例えば、IgG₁、IgG₂、IgG₃もしくはIgG₄であり得る。hMPVに特異的に結合する抗体のクラスは、互いにスイッチされ得る。一態様では、V_LまたはV_Hをコードする核酸分子は、それぞれ軽鎖または重鎖の定常領域をコードするいずれの核酸配列も含まないように、単離される。次いで、V_LまたはV_Hをコードする核酸分子は、異なるクラスの免疫グロブリン分子由来のC_LまたはC_Hをコードする核酸配列に動作可能に連結される。これは、例えば、C_LまたはC_H鎖を含むベクターまたは核酸分子を使用して、達成され得る。例えば、元々IgGであった、PfCSPに特異的に結合する抗体は、IgMにクラススイッチされ得る。クラススイッチは、1つのIgGサブクラスを別のサブクラスに、例えば、IgG₁からIgG₂、IgG₃またはIgG₄に変換するために使用され得る。

10

【0247】

一部の例では、開示される抗体は、抗体のオリゴマー、例えば、ダイマー、トリマー、テトラマー、ペンタマー、ヘキサマー、セプタマー (septamer)、オクトマー (octomer) などである。

【0248】

抗体または抗原結合性断片は、誘導体化され得るまたは別の分子 (例えば、別のペプチドまたはタンパク質) に連結され得る。一般に、抗体または抗原結合性断片は、hMPVへの結合が、誘導体化によっても標識化によっても悪影響を受けないように、誘導体化される。例えば、抗体または抗原結合性断片は、1つまたは複数の他の分子実体、例えば、別の抗体 (例えば、二特異性抗体またはディアボディ)、検出可能なマーカー、エフェクター分子、または抗体もしくは抗体部分と別の分子との会合を媒介することができるタンパク質もしくはペプチド (例えば、ストレプトアビジンコア領域またはポリヒスチジンタグ) に、(化学的カップリング、遺伝子融合、非共有結合による会合または他の方法によって) 機能的に連結され得る。

20

【0249】

(a) 結合親和性

いくつかの実施形態では、抗体または抗原結合性断片は、 1.0×10^{-8} M以下、 5.0×10^{-8} M以下、 1.0×10^{-9} M以下、 5.0×10^{-9} M以下、 1.0×10^{-10} M以下、 5.0×10^{-10} M以下または 1.0×10^{-11} M以下の親和性 (例えば、K_Dによって測定される) で、hMPV Fタンパク質に特異的に結合する。K_Dは、例えば、Fabバージョンの目的の抗体およびその抗原を用いて実施される放射性標識された抗原結合アッセイ (RIA) によって、測定され得る。1つのアッセイでは、抗原に対するFabの溶液結合親和性は、未標識の抗原の力価測定シリーズの存在下で、最小限の濃度の (10^{25} I) 標識された抗原を用いてFabを平衡化し、次いで、結合した抗原を抗Fab抗体コーティングされたプレートを用いて捕捉することによって、測定される (例えば、Chen et al., J. Mol. Biol. 293(4):865-881, 1999を参照されたい)。アッセイのための条件を確立するために、MICROTITER (登録商標) マルチウェルプレート (Thermo Scientific) は、50mMの炭酸ナトリウム (pH 9.6) 中 $5 \mu\text{g}/\text{ml}$ の捕捉抗Fab抗体 (Cappel Labs) で一晚コーティングされ、引き続いて、室温 (およそ23°C) で2~5時間にわたって、PBS中2% (w/v) のウシ血清アルブミンでブロッキングされる。非吸着性プレート (NUNC (商標) カタログ番号269620) 中で、 $100 \mu\text{M}$ または 26 pM の [^{125}I] - 抗原は、目的のFabの連続希釈と混合される (例えば、Presta et al., Cancer Res. 57(20):4593-4599, 1997における、抗VEGF抗体Fab-12の評価と一致して)。次いで、目的のFabは、一晚インキュベートされる; しかし、イ

30

40

50

ンキュベーションは、平衡に達することを確実にするために、より長い期間（例えば、約65時間）にわたって継続し得る。その後、混合物は、室温でのインキュベーション（例えば、1時間にわたる）のために、捕捉プレートに移される。次いで、溶液が除去され、プレートが、PBS中0.1%のポリソルベート20（TWEEN（登録商標）-20）で8回洗浄される。プレートが乾燥したら、150 μ l/ウェルのシンチラント（MICROSCINT（商標）-20；PerkinElmer）が添加され、プレートは、10分間にわたってTOPCOUNT（商標）ガンマカウンター（PerkinElmer）で計数される。最大結合の20%未満またはそれと等しい%を与える各Fabの濃度が、競合的結合アッセイにおける使用のために選択される。

【0250】

別のアッセイでは、 K_D は、約10応答単位（RU）で固定化された抗原CM5チップと共にBIACORE（登録商標）-2000またはBIACORE（登録商標）-3000（BIAcore, Inc., Piscataway, N. J.）を25℃で使用する表面プラズモン共鳴アッセイを使用して、測定され得る。簡潔に述べると、カルボキシメチル化されたデキストランバイオセンサーチップ（CM5、BIACORE（登録商標）, Inc.）が、供給業者の使用説明書に従って、N-エチル-N'-（3-ジメチルアミノプロピル）-カルボジイミド塩酸塩（EDC）およびN-ヒドロキシスクシンイミド（NHS）で活性化される。抗原は、およそ10応答単位（RU）のカップリングされたタンパク質を達成するために、5 l/分の流速での注入の前に、5 μ g/ml（約0.2 μ M）になるように、10 mMの酢酸ナトリウム、pH 4.8で希釈される。抗原の注入の後、1 Mのエタノールアミンが、未反応の基を遮断するために注入される。速度論測定のために、0.05%ポリソルベート20（TWEEN-20（商標））界面活性剤を有するPBS（PBST）中でのFabの2倍連続希釈（0.78 nM~500 nM）が、およそ25 l/分の流速で、25℃で注入される。会合速度（ k_{on} ）および解離速度（ k_{off} ）は、会合および解離センサーグラムを同時にフィットさせることによって、単純な1対1 Langmuir結合モデル（BIACORE（登録商標）Evaluation Softwareバージョン3.2）を使用して計算される。平衡解離定数（ K_D ）は、比 k_{off}/k_{on} として計算される。例えば、Chen et al., J. Mol. Biol. 293:865-881（1999）を参照されたい。オンレート（on-rate）が上記表面プラズモン共鳴アッセイによって $10^6 M^{-1} s^{-1}$ を超える場合、オンレートは、スペクトロメーター、例えば、攪拌キュベットを有するストップフロー装置分光光度計（Aviv Instruments）または8000-シリーズSLM-AMINCO（商標）分光光度計（Thermo Spectronic）において測定されるように、漸増濃度の抗原の存在下で、PBS、pH 7.2中20 nMの抗抗原抗体（Fab形態）の25℃における蛍光発光強度（励起=295 nm；発光=340 nm、16 nmバンドパス）における増加または減少を測定する蛍光クエンチング技法を使用することによって、決定され得る。

【0251】

（b）多特異性抗体

一部の実施形態では、本明細書で提供されるhMPVに特異的に結合する抗体または抗原結合性断片を含む多特異性抗体、例えば、二特異性抗体またはその抗原結合性断片が、提供される。同じ型または異なる型の2つまたはそれよりも多くの抗体、抗原結合性断片（例えば、scFv）を架橋するなどの、任意の適切な方法が、多特異性抗体を設計および産生するために使用され得る。多特異性抗体を作製する例示的な方法には、その全体が参照により本明細書に組み込まれるPCT公開番号WO2013/163427に記載されるものが含まれる。適切な架橋剤の非限定的な例には、適切なスペーサーによって分離された2つの別個に反応性の基を有するヘテロ二官能性であるもの（例えば、m-マレイミドベンゾイル-N-ヒドロキシスクシンイミドエステル）またはホモ二官能性であるもの（例えば、スベリン酸ジスクシンイミジル）が含まれる。

【0252】

多特異性抗体は、本明細書で提供される抗体または抗原結合性断片による h M P V F タンパク質への結合を可能にする任意の適切な形式を有し得る。二特異性単鎖抗体は、単一の核酸分子によってコードされ得る。二特異性単鎖抗体の非限定的な例、ならびにかかる抗体を構築する方法は、米国特許第 8, 076, 459 号、第 8, 017, 748 号、第 8, 007, 796 号、第 7, 919, 089 号、第 7, 820, 166 号、第 7, 635, 472 号、第 7, 575, 923 号、第 7, 435, 549 号、第 7, 332, 168 号、第 7, 323, 440 号、第 7, 235, 641 号、第 7, 229, 760 号、第 7, 112, 324 号、第 6, 723, 538 号に提供される。二特異性単鎖抗体の追加の例は、P C T 出願番号 W O 99 / 54440 ; Mack et al., J. Immunol., 158(8):3965-3970, 1997 ; Mack et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 92(15):7021-7025, 1995 ; Kufer et al., Cancer Immunol. Immunother., 45(3-4):193-197, 1997 ; Loffler et al., Blood, 95(6):2098-2103, 2000 ; および Bruhl et al., J. Immunol., 166(4):2420-2426, 2001 で見出され得る。二特異性 F a b - s c F v (「バイボディ (b i b o d y)」) 分子の産生は、例えば、Schoonjans et al. (J. Immunol., 165(12):7050-7057, 2000) および Willems et al. (J. Chromatogr. B Analyt. Technol. Biomed Life Sci. 786(1-2):161-176, 2003) に記載されている。バイボディのために、s c F v 分子は、例えば、1 つの s c F v が F a b 鎖の C 末端に融合されたバイボディを産生するために、V L - C L (L) 鎖または V H - C H 1 鎖のうち的一方に融合され得る。

10

20

【0253】

(c) 抗原結合性断片

重鎖および V_L を含み、h M P V F タンパク質に特異的に結合する抗原結合性断片、例えば、F a b、F (a b')₂ および F v が、本開示に包含される。これらの抗体断片は、抗原に選択的に結合する能力を保持し、「抗原結合性」断片である。かかる断片の非限定的な例には、以下が含まれる：

(1) 抗体分子の一価抗原結合性断片を含有する断片である F a b は、インタクトな軽鎖と 1 つの重鎖の一部分とを生じるように、酵素パパインによる抗体全体の消化によって産生され得る；

(2) 抗体分子の断片である F a b' は、インタクトな軽鎖と重鎖の一部分とを生じるように、抗体全体をペプシンで処理しその後還元することによって得られ得る；

(3) 引き続き還元なしに抗体全体を酵素ペプシンで処理することによって得られ得る抗体の断片である (F a b')₂ ; F (a b')₂ は、2 つのジスルフィド結合によって一緒にされた 2 つの F a b' 断片のダイマーである；

(4) 2 つの鎖として発現される V_L および V_L を含有する遺伝子操作された断片である F v ; ならびに

(5) 適切なポリペプチドリンカーによって遺伝的に融合された単鎖分子として連結された V_H および V_L を含有する遺伝子操作された分子として定義される、単鎖抗体 (例えば、s c F v) (例えば、Ahmad et al., Clin. Dev. Immunol., 2012, doi: 10.1155/2012/980250 ; Marbry and Snavely, IDrugs, 13(8):543-549, 2010 を参照されたい)。s c F v 中の V_H-ドメインおよび V_L-ドメインの分子内配向は、提供された抗体 (例えば、提供された多特異性抗体) にとって決定的ではない。したがって、両方の可能な配置 (V_H-ドメイン-リンカードメイン-V_L-ドメイン ; V_L-ドメイン-リンカードメイン-V_H-ドメイン) を有する s c F v が使用され得る。

30

40

(6) s c F v のダイマーとして定義される、単鎖抗体のダイマー (s c F v₂)。これは、「ミニ抗体 (mini antibody)」とも呼ばれている。

【0254】

上で議論した抗原結合性断片を産生するための任意の適切な方法が使用され得る。非限定的な例は、Harlow and Lane, Antibodies: A Laboratory Manual, 2nd, Cold Spring Harbor Laboratory, New York, 2013 に提供される。

50

【0255】

抗原結合性断片は、抗体のタンパク質分解性加水分解によって、または断片をコードするDNAの宿主細胞（例えば、E. coli細胞）における発現によって、調製され得る。抗原結合性断片は、従来の方法によって、抗体全体のペプシンまたはパパイン消化によって得ることもできる。例えば、抗原結合性断片は、F(ab')₂と呼ばれる5S断片を提供するための、ペプシンによる抗体の酵素的切断によって産生され得る。この断片は、3.5S Fab'一価断片を産生するために、チオール還元剤、および必要に応じて、ジスルフィド連結の切断から生じるスルフヒドリル基のための遮断基を使用して、さらに切断され得る。

【0256】

断片が、インタクトな抗体によって認識される抗原に結合する限り、抗体を切断するための他の方法、例えば、一価軽-重鎖断片を形成するための重鎖の分離、断片のさらなる切断、または他の酵素的、化学的もしくは遺伝的技法もまた、使用され得る。

【0257】

(d) バリエーション

一部の実施形態では、本明細書で提供される抗体（例えば、MPV467、または開示される抗体のいずれか）のアミノ酸配列バリエーションが提供される。例えば、抗体の結合親和性および／または他の生物学的特性を改善することが望ましい場合がある。抗体のアミノ酸配列バリエーションは、抗体をコードするヌクレオチド配列中に適切な改変を導入することによって、またはペプチド合成によって、調製され得る。かかる改変には、例えば、抗体のアミノ酸配列からの欠失、および／または抗体のアミノ酸配列中への挿入、および／または抗体のアミノ酸配列内の残基の置換が含まれる。最終構築物が所望の特徴、例えば、抗原結合を保有することを条件として、欠失、挿入および置換の任意の組合せが、最終構築物に到達するために行われ得る。

【0258】

一部の実施形態では、1つまたは複数のアミノ酸置換を有する抗体バリエーションが提供される。置換変異誘発のための目的の部位には、CDRおよびフレームワーク領域が含まれる。アミノ酸置換が目的の抗体中に導入され得、産物は、所望の活性、例えば、保持／改善された抗原結合、減少された免疫原性または改善されたADCCもしくはCDCについてスクリーニングされ得る。

【0259】

バリエーションは、典型的には、正確なフォールディングおよびV_H領域とV_L領域との間での安定化に必要なアミノ酸残基を保持し、分子の低いpIおよび低い毒性を保つために、残基の電荷特徴を保持する。アミノ酸置換は、収量を増加させるために、V_HおよびV_L領域中で行われ得る。

【0260】

一部の実施形態では、抗体の重鎖は、配列番号1のものとして示されるアミノ酸配列と比較して、最大で10個（例えば、最大で1、最大で2、最大で3、最大で4、最大で5、最大で6、最大で7、最大で8または最大で9個）のアミノ酸置換（例えば、保存的アミノ酸置換）を含む。一部の実施形態では、抗体の軽鎖は、配列番号5のものとして示されるアミノ酸配列と比較して、最大で10個（例えば、最大で1、最大で2、最大で3、最大で4、最大で5、最大で6、最大で7、最大で8または最大で9個）のアミノ酸置換（例えば、保存的アミノ酸置換）を含む。

【0261】

一部の実施形態では、抗体の重鎖は、配列番号9のものとして示されるアミノ酸配列と比較して、最大で10個（例えば、最大で1、最大で2、最大で3、最大で4、最大で5、最大で6、最大で7、最大で8または最大で9個）のアミノ酸置換（例えば、保存的アミノ酸置換）を含む。一部の実施形態では、抗体の軽鎖は、配列番号13のものとして示されるアミノ酸配列と比較して、最大で10個（例えば、最大で1、最大で2、最大で3、最大で4、最大で5、最大で6、最大で7、最大で8または最大で9個）のアミノ酸置

【 0 2 6 2 】

【 0 2 6 3 】

【 0 2 6 4 】

【 0 2 6 5 】

【 0 2 6 6 】

【 0 2 6 7 】

【 0 2 6 8 】

10

20

30

40

50

50

50

50

50

50

50

50

一部の実施形態では、抗体の重鎖は、配列番号 113 のものとして示されるアミノ酸配列と比較して、最大で 10 個（例えば、最大で 1、最大で 2、最大で 3、最大で 4、最大

で5、最大で6、最大で7、最大で8または最大で9個)のアミノ酸置換(例えば、保存的アミノ酸置換)を含む。一部の実施形態では、抗体の軽鎖は、配列番号117のものとして示されるアミノ酸配列と比較して、最大で10個(例えば、最大で1、最大で2、最大で3、最大で4、最大で5、最大で6、最大で7、最大で8または最大で9個)のアミノ酸置換(例えば、保存的アミノ酸置換)を含む。

【0275】

一部の実施形態では、抗体の重鎖は、配列番号121のものとして示されるアミノ酸配列と比較して、最大で10個(例えば、最大で1、最大で2、最大で3、最大で4、最大で5、最大で6、最大で7、最大で8または最大で9個)のアミノ酸置換(例えば、保存的アミノ酸置換)を含む。一部の実施形態では、抗体の軽鎖は、配列番号125のものとして示されるアミノ酸配列と比較して、最大で10個(例えば、最大で1、最大で2、最大で3、最大で4、最大で5、最大で6、最大で7、最大で8または最大で9個)のアミノ酸置換(例えば、保存的アミノ酸置換)を含む。

【0276】

一部の実施形態では、抗体の重鎖は、配列番号129のものとして示されるアミノ酸配列と比較して、最大で10個(例えば、最大で1、最大で2、最大で3、最大で4、最大で5、最大で6、最大で7、最大で8または最大で9個)のアミノ酸置換(例えば、保存的アミノ酸置換)を含む。一部の実施形態では、抗体の軽鎖は、配列番号133のものとして示されるアミノ酸配列と比較して、最大で10個(例えば、最大で1、最大で2、最大で3、最大で4、最大で5、最大で6、最大で7、最大で8または最大で9個)のアミノ酸置換(例えば、保存的アミノ酸置換)を含む。

【0277】

一部の実施形態では、抗体の重鎖は、配列番号137のものとして示されるアミノ酸配列と比較して、最大で10個(例えば、最大で1、最大で2、最大で3、最大で4、最大で5、最大で6、最大で7、最大で8または最大で9個)のアミノ酸置換(例えば、保存的アミノ酸置換)を含む。一部の実施形態では、抗体の軽鎖は、配列番号141のものとして示されるアミノ酸配列と比較して、最大で10個(例えば、最大で1、最大で2、最大で3、最大で4、最大で5、最大で6、最大で7、最大で8または最大で9個)のアミノ酸置換(例えば、保存的アミノ酸置換)を含む。

【0278】

一部の実施形態では、抗体または抗原結合性断片は、公知のフレームワーク領域と比較して、またはMPV86、MPV414、MPV454、MPV456、MPV464、MPV467、MPV477、MPV478、MPV481、MPV482、MPV483、MPV485、MPV486、MPV487、MPV488、MPV489、MPV491もしくはMPV503抗体のフレームワーク領域と比較して、抗体の重鎖または抗体の軽鎖または抗体の重鎖および軽鎖のフレームワーク領域中に、最大で10個(例えば、最大で1、最大で2、最大で3、最大で4、最大で5、最大で6、最大で7、最大で8または最大で9個)のアミノ酸置換(例えば、保存的アミノ酸置換)を含み得、hMPVFタンパク質に対する特異的結合活性を維持する。

【0279】

一部の実施形態では、かかる変更が、抗体が抗原に結合する能力を実質的に低減させない限り、置換、挿入または欠失は、1つまたは複数のCDR内に存在し得る。例えば、結合親和性を実質的に低減させない保存的変更(例えば、本明細書で提供される保存的置換)が、CDR中で行われ得る。上で提供されたバリエーションV_HおよびV_L配列の一部の実施形態では、各CDRは、未変更であるか、または1つ、2つもしくは3つ以下のアミノ酸置換を含有するかのいずれかである。

【0280】

抗体の結合親和性を増加させるために、V_LおよびV_Hセグメントは、天然の免疫応答の間の抗体の親和性成熟を担う*in vivo*体細胞変異プロセスと類似のプロセスで、例えば、HC_{DR}3領域内またはLC_{DR}3領域内で、ランダムに変異され得る。したが

って、*in vitro* 親和性成熟は、それぞれ HCDR3 または LCDR3 に対して相補的な PCR プライマーを使用して V_H および V_L 領域を増幅することによって達成され得る。このプロセスでは、得られた PCR 産物が、ランダム変異が V_H および / または V_L CDR3 領域中に導入された V_H および V_L セグメントをコードするように、プライマーは、ある特定の位置において、4 種のヌクレオチド塩基のランダム混合物で「スパイク」されている。これらのランダムに変異した V_H および V_L セグメントは、hMPV F タンパク質に対する結合親和性を決定するために試験され得る。

【0281】

一部の実施形態では、抗体（例えば、MPV86、MPV414、MPV454、MPV456、MPV464、MPV467、MPV477、MPV478、MPV481、MPV482、MPV483、MPV485、MPV486、MPV487、MPV488、MPV489、MPV491 または MPV503）または抗原結合性断片は、抗体または抗原結合性断片がグリコシル化される程度を増加または減少させるために変更される。グリコシル化部位の付加または欠失は、1 つまたは複数のグリコシル化部位が創出または除去されるようにアミノ酸配列を変更することによって、簡便に達成され得る。

10

【0282】

抗体（例えば、MPV86、MPV414、MPV454、MPV456、MPV464、MPV467、MPV477、MPV478、MPV481、MPV482、MPV483、MPV485、MPV486、MPV487、MPV488、MPV489、MPV491 または MPV503）が Fc 領域を含む場合、それに結合される炭水化物は、変更され得る。哺乳動物細胞によって産生されるネイティブ抗体は、典型的には、Fc 領域の CH₂ ドメインの Asn297 に N-結合によって一般に結合される分岐鎖の二分岐オリゴ糖を含む。例えば、Wright et al. Trends Biotechnol. 15(1):26-32, 1997 を参照されたい。オリゴ糖は、種々の炭水化物、例えば、マンノース、N-アセチルグルコサミン (GlcNAc)、ガラクトースおよびシアル酸、ならびに二分岐オリゴ糖構造の「ステム」中の GlcNAc に結合したフコースを含み得る。一部の実施形態では、抗体中のオリゴ糖の改変は、ある特定の改善された特性を有する抗体バリエーションを創出するために行われ得る。

20

【0283】

一実施形態では、Fc 領域に（直接的または間接的に）結合したフコースを欠如する炭水化物構造を有する抗体バリエーションが提供される。例えば、かかる抗体中のフコースの量は、1%~80%、1%~65%、5%~65% または 20%~40% であり得る。フコースの量は、例えば、WO2008/077546 に記載されるように、MALDI-TOF 質量分析によって測定される、Asn297 に結合した全ての糖構造 (glycostructure)（例えば、複合体、ハイブリッドおよび高マンノース構造）の合計と比較して、Asn297 における糖鎖内のフコースの平均量を計算することによって決定される。Asn297 は、Fc 領域中の約 297 位に位置するアスパラギン残基を指す；しかし、Asn297 は、抗体における軽微な配列バリエーションに起因して、297 位の上流または下流約 ±3 アミノ酸、即ち、294 位と 300 位との間にも位置し得る。かかるフコシル化バリエーションは、改善された ADCC 機能を有し得る。例えば、米国特許出願公開第 2003/0157108 号 (Presta, L.)；米国特許出願公開第 2004/0093621 号 (Kyowa Hakko Kogyo Co., Ltd) を参照されたい。「脱フコシル化された」または「フコース欠損」抗体バリエーションに関連する刊行物の例には、以下が含まれる：米国特許出願公開第 2003/0157108 号；WO2000/61739；WO2001/29246；米国特許出願公開第 2003/0115614 号；米国特許出願公開第 2002/0164328 号；米国特許出願公開第 2004/0093621 号；米国特許出願公開第 2004/0132140 号；米国特許出願公開第 2004/0110704 号；米国特許出願公開第 2004/0110282 号；米国特許出願公開第 2004/0109865 号；WO2003/085119；WO2003/084570；WO2005/035586；WO2005/03577

30

40

50

8 ; WO 2 0 0 5 / 0 5 3 7 4 2 ; WO 2 0 0 2 / 0 3 1 1 4 0 ; Okazaki et al., J. Mol. Biol., 336(5):1239-1249, 2004 ; Yamane-Ohnuki et al., Biotechnol. Bioeng., 87(5):614-622, 2004。脱フコシル化された抗体を産生することが可能な細胞系の例には、タンパク質フコシル化が欠損した L e c 1 3 C H O 細胞 (Ripka et al., Arch. Biochem. Biophys., 249(2):533-545, 1986 ; 米国特許出願公開第 2 0 0 3 / 0 1 5 7 1 0 8 号および WO 2 0 0 4 / 0 5 6 3 1 2、特に、実施例 1 1)、およびノックアウト細胞系、例えば、アルファ-1, 6-フコシルトランスフェラーゼ遺伝子 F U T 8 がノックアウトされた C H O 細胞 (例えば、Yamane-Ohnuki et al., Biotechnol. Bioeng., 87(5): 614-622, 2004 ; Kanda et al., Biotechnol. Bioeng., 94(4):680-688, 2006 ; および WO 2 0 0 3 / 0 8 5 1 0 7 を参照されたい) が含まれる。

10

【0284】

抗体バリエーションには、例えば、抗体の F c 領域に結合した二分岐オリゴ糖が G l c N A c によって 2 つに分かれた、2 つに分かれたオリゴ糖がさらに提供される。かかる抗体バリエーションは、低減されたフコシル化および／または改善された A D C C 機能を有し得る。かかる抗体バリエーションの例は、例えば、WO 2 0 0 3 / 0 1 1 8 7 8 (J e a n - M a i r e t ら) ; 米国特許第 6, 6 0 2, 6 8 4 号 (U m a n a ら) ; および米国特許出願公開第 2 0 0 5 / 0 1 2 3 5 4 6 号 (U m a n a ら) に記載されている。F c 領域に結合されたオリゴ糖中に少なくとも 1 つのガラクトース残基を有する抗体バリエーションもまた提供される。かかる抗体バリエーションは、改善された C D C 機能を有し得る。かかる抗体バリエーションは、例えば、WO 1 9 9 7 / 3 0 0 8 7 ; WO 1 9 9 8 / 5 8 9 6 4 ; および WO 1 9 9 9 / 2 2 7 6 4 に記載されている。

20

【0285】

いくつかの実施形態では、抗体 (例えば、MPV 8 6、MPV 4 1 4、MPV 4 5 4、MPV 4 5 6、MPV 4 6 4、MPV 4 6 7、MPV 4 7 7、MPV 4 7 8、MPV 4 8 1、MPV 4 8 2、MPV 4 8 3、MPV 4 8 5、MPV 4 8 6、MPV 4 8 7、MPV 4 8 8、MPV 4 8 9、MPV 4 9 1 または MPV 5 0 3) の定常領域は、抗体の i n v i v o 半減期を最適化するための 1 つまたは複数のアミノ酸置換を含む。I g G A b の血清半減期は、新生児 F c 受容体 (F c R n) によって調節される。したがって、いくつかの実施形態では、抗体は、F c R n への結合を増加させるアミノ酸置換を含む。かかる置換の非限定的な例には、I g G 定常領域における置換 T 2 5 0 Q および M 4 2 8 L (例えば、Hinton et al., J Immunol., 176(1):346-356, 2006 を参照されたい) ; M 4 2 8 L および N 4 3 4 S (「L S」変異、例えば、Zalevsky, et al., Nature Biotechnol., 28(2):157-159, 2010 を参照されたい) ; N 4 3 4 A (例えば、Petkova et al., Int. Immunol., 18(12):1759-1769, 2006 を参照されたい) ; T 3 0 7 A、E 3 8 0 A および N 4 3 4 A (例えば、Petkova et al., Int. Immunol., 18(12):1759-1769, 2006 を参照されたい) ; ならびに M 2 5 2 Y、S 2 5 4 T および T 2 5 6 E (例えば、Dall'Acqua et al., J. Biol. Chem., 281(33):23514-23524, 2006 を参照されたい) が含まれる。開示される抗体および抗原結合性断片は、上に列挙した置換のいずれかを含む F c ポリペプチドに連結され得るまたはかかる F c ポリペプチドを含み得る、例えば、F c ポリペプチドは、M 4 2 8 L および N 4 3 4 S 置換を含み得る。

30

40

【0286】

一部の実施形態では、抗体の定常領域は、A D C C を最適化するための 1 つまたは複数のアミノ酸置換を含む。A D C C は、密接に関連する F c γ 受容体のセットを主に介して媒介される。一部の実施形態では、抗体は、F c γ R I I I a への結合を増加させる 1 つまたは複数のアミノ酸置換を含む。かかる置換の非限定的な例には、I g G 定常領域における置換 S 2 3 9 D および I 3 3 2 E (例えば、Lazar et al., Proc. Natl., Acad. Sci. U.S.A., 103(11):4005-4010, 2006 を参照されたい) ; ならびに S 2 3 9 D、A 3 3 0 L および I 3 3 2 E (例えば、Lazar et al., Proc. Natl., Acad. Sci. U.S.A., 103(11):4005-4010, 2006 を参照されたい) が含まれる。

50

d. Sci. U.S.A., 103(11):4005-4010, 2006を参照されたい)が含まれる。

【0287】

上記置換の組合せは、FcRnおよびFcγRIIIaへの増加した結合を有するIgG定常領域を生成するためにも含まれる。これらの組合せは、抗体半減期およびADCCを増加させる。例えば、かかる組合せには、Fc領域中に以下のアミノ酸置換を有する抗体が含まれる：(1) S239D/I332EおよびT250Q/M428L；(2) S239D/I332EおよびM428L/N434S；(3) S239D/I332EおよびN434A；(4) S239D/I332EおよびT307A/E380A/N434A；(5) S239D/I332EおよびM252Y/S254T/T256E；(6) S239D/A330L/I332EおよびT250Q/M428L；(7) S239D/A330L/I332EおよびM428L/N434S；(8) S239D/A330L/I332EおよびN434A；(9) S239D/A330L/I332EおよびT307A/E380A/N434A；または(10) S239D/A330L/I332EおよびM252Y/S254T/T256E。一部の例では、抗体またはその抗原結合性断片は、感染細胞にとって直接的に細胞毒性であるように、または天然の防御、例えば、補体、ADCC、もしくはマクロファージによるファゴサイトーシスを使用するように、改変される。

【0288】

一部の実施形態では、本明細書で提供される抗体は、追加の非タンパク質性部分を含有するようにさらに改変され得る。抗体の誘導体化に適切な部分には、水溶性ポリマーが含まれるがこれに限定されない。水溶性ポリマーの非限定的な例には、ポリエチレングリコール(PEG)、エチレングリコール/プロピレングリコールのコポリマー、カルボキシメチルセルロース、デキストラン、ポリビニルアルコール、ポリビニルピロリドン、ポリ-1,3-ジオキソラン、ポリ-1,3,6-トリオキサン、エチレン/無水マレイン酸コポリマー、ポリアミノ酸(ホモポリマーまたはランダムコポリマーのいずれか)、およびデキストランまたはポリ(n-ビニルピロリドン)ポリエチレングリコール、ポリプロピレングリコール(propylene glycol)ホモポリマー、ポリプロピレンオキシド(polypropylene oxide)/エチレンオキシドコポリマー、ポリオキシエチル化ポリオール(例えば、グリセロール)、ポリビニルアルコール、ならびにそれらの混合物が含まれるがこれらに限定されない。ポリエチレングリコールプロピオンアルデヒドは、水中でのその安定性に起因して、製造において利点を有し得る。ポリマーは、任意の分子量のものであり得、分岐鎖または非分岐鎖であり得る。抗体に結合されるポリマーの数は変動し得、1つよりも多くのポリマーが結合される場合、それらは、同じ分子または異なる分子であり得る。一般に、誘導体化に使用されるポリマーの数および/または型は、改善される抗体の特定の特性または機能、抗体誘導体が規定された条件下での適用において使用されるかどうかなどが含まれるがこれらに限定されない検討事項に基づいて、決定され得る。

【0289】

B. コンジュゲート

本明細書で開示されるhMPV Fタンパク質に特異的に結合する抗体および抗原結合性断片は、薬剤、例えば、エフェクター分子または検出可能なマーカーにコンジュゲートされ得る。共有結合による結合および非共有結合による結合の両方の手段が使用され得る。毒素および放射性薬剤、例えば、 ^{125}I 、 ^{32}P 、 ^{14}C 、 ^3H および ^{35}S ならびに他の標識、標的部分およびリガンドなどが含まれる(がこれらに限定されない)種々のエフェクター分子および検出可能なマーカーが使用され得る。特定のエフェクター分子または検出可能なマーカーの選択は、特定の標的分子または細胞、および所望の生物学的効果に依存する。

【0290】

エフェクター分子または検出可能なマーカーを抗体または抗原結合性断片に結合させるための手順は、エフェクターの化学構造に従って変動する。ポリペプチドは、典型的には

、エフェクター分子または検出可能なマーカーの結合を生じるための、ポリペプチド上の適切な官能基との反応のために利用可能な種々の官能基、例えば、カルボキシル（ $-\text{COOH}$ ）、遊離アミン（ $-\text{NH}_2$ ）またはスルフヒドリル（ $-\text{SH}$ ）基を含有する。あるいは、抗体または抗原結合性断片は、追加の反応性官能基を曝露または結合させるために誘導体化される。誘導体化には、任意の適切なリンカー分子の結合が関与し得る。リンカーは、抗体または抗原結合性断片およびエフェクター分子または検出可能なマーカーの両方への共有結合を形成することが可能である。適切なリンカーには、直鎖もしくは分岐鎖炭素リンカー、複素環式炭素リンカーまたはペプチドリリンカーが含まれるがこれらに限定されない。抗体または抗原結合性断片およびエフェクター分子または検出可能なマーカーがポリペプチドである場合、リンカーは、それらの側鎖を介して（例えば、ジスルフィド連結を介してシステインに）もしくはアルファ炭素を介して、または末端アミノ酸のアミノおよび／もしくはカルボキシル基を介して、構成成分のアミノ酸に接続され得る。

10

【0291】

種々の放射線診断化合物、放射線治療化合物、標識（例えば、酵素または蛍光分子）、毒素および他の薬剤を抗体に結合させるための報告された多数の方法を考慮して、所与の薬剤を抗体もしくは抗原結合性断片または他のポリペプチドに結合させるための適切な方法が決定され得る。

【0292】

抗体または抗原結合性断片は、検出可能なマーカー；例えば、ELISA、分光光度法、フローサイトメトリー、顕微鏡法または診断的イメージング技法（例えば、CT、コンピュータ体軸断層撮影（*computed axial tomography*）（CAT）、MRI、磁気共鳴断層撮影（*MTR*）、超音波、光ファイバー試験および腹腔鏡試験）による検出が可能な検出可能なマーカーとコンジュゲートされ得る。検出可能なマーカーの具体的な非限定的な例には、フルオロフォア、化学発光剤、酵素的連結、放射性アイソトープおよび重金属または化合物（例えば、MRIによる検出のための超常磁性酸化鉄ナノ結晶）が含まれる。例えば、有用な検出可能なマーカーには、フルオレセイン、フルオレセインイソチオシアネート、ローダミン、5-ジメチルアミン-1-ナフタレンスルホニル（*naphthalenesulfonyl*）クロリド、フィコエリトリン、ランタニドリン光体等が含まれる蛍光化合物が含まれる。生物発光マーカー、例えば、ルシフェラーゼ、緑色蛍光タンパク質（*GFP*）および黄色蛍光タンパク質（*YFP*）もまた使用される。抗体または抗原結合性断片は、検出のために有用な酵素、例えば、西洋ワサビペルオキシダーゼ、 β -ガラクトシダーゼ、ルシフェラーゼ、アルカリホスファターゼ、グルコースオキシダーゼなどともコンジュゲートされ得る。抗体または抗原結合性断片が検出可能な酵素とコンジュゲートされる場合、それは、判別することができる反応産物を産生するために酵素が使用する追加の試薬を添加することによって、検出され得る。例えば、薬剤西洋ワサビペルオキシダーゼが存在する場合、過酸化水素およびジアミノベンジジンの添加は、視覚的に検出可能な着色反応産物をもたらす。抗体または抗原結合性断片は、ビオチンともコンジュゲートされ得、アビジンまたはストレプトアビジン結合の間接的測定を介して検出され得る。アビジン自体が酵素または蛍光標識とコンジュゲートされ得ることに留意すべきである。

20

30

40

【0293】

抗体または抗原結合性断片は、常磁性薬剤、例えば、ガドリニウムとコンジュゲートされ得る。常磁性薬剤、例えば、超常磁性酸化鉄は、標識としても使用される。抗体は、ランタニド（例えば、ユーロピウムおよびジスプロシウム）およびマンガンともコンジュゲートされ得る。抗体または抗原結合性断片は、二次レポーターによって認識される所定のポリペプチドエピトープ（例えば、ロイシンジッパー対配列、二次抗体に対する結合部位、金属結合ドメイン、エピトープタグ）でも標識され得る。

【0294】

抗体または抗原結合性断片は、例えば、診断目的のために、放射性標識されたアミノ酸ともコンジュゲートされ得る。例えば、放射性標識は、X線検査、発光スペクトルまたは

50

他の診断技法によってhMPVを検出するために使用され得る。ポリペプチドのための標識の例には、以下のラジオアイソトープが含まれるがこれらに限定されない： ^3H 、 ^{14}C 、 ^{35}S 、 ^{90}Y 、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 、 ^{111}In 、 ^{125}I 、 ^{131}I 。放射性標識は、例えば、写真フィルムまたはシンチレーションカウンタを使用して検出され得、蛍光マーカーは、発光された照射を検出するための光検知器を使用して検出され得る。酵素的標識は、典型的には、酵素に基質を提供し、基質に対する酵素の作用によって産生された反応産物を検出することによって検出され、比色標識は、着色標識を単に可視化することによって検出される。

【0295】

コンジュゲート中の抗体または抗原結合性断片1つ当たりのエフェクター分子または検出可能なマーカー部分の平均数は、例えば、抗体または抗原結合性断片1つ当たり1～20個の部分の範囲であり得る。一部の実施形態では、コンジュゲート中の抗体または抗原結合性断片1つ当たりのエフェクター分子または検出可能なマーカー部分の平均数は、約1～約2、約1～約3、約1～約8；約2～約6；約3～約5；または約3～約4の範囲である。コンジュゲートの負荷（例えば、抗体1つ当たりのエフェクター分子の比）は、異なる方法で、例えば、(i) 抗体と比較して、モル過剰なエフェクター分子—リンカー中間体またはリンカー試薬を制限すること、(ii) コンジュゲーション反応時間または温度を制限すること、(iii) システインチオール改変のための部分的または限定的な還元条件、(iv) システイン残基の数および位置がリンカー—エフェクター分子結合の数または位置の制御のために改変されるように、抗体のアミノ酸配列を組換え技法によって操作すること、によって、制御され得る。

【0296】

C. ポリヌクレオチドおよび発現

本明細書で開示されるhMPVに特異的に結合する抗体、抗原結合性断片およびコンジュゲートのアミノ酸配列をコードする核酸分子（例えば、cDNAまたはRNA分子）が提供される。これらの分子をコードする核酸は、本明細書で提供されるアミノ酸配列（例えば、CDR配列ならびに V_H および V_L 配列）、当該分野で利用可能な配列（例えば、フレームワークまたは定常領域配列）および遺伝コードを使用して、容易に産生され得る。いくつかの実施形態では、核酸分子は、開示される抗体または抗原結合性断片の V_H 、 V_L 、または V_H および V_L の両方（例えば、バイシストロニック発現ベクター中では）をコードし得る。一部の実施形態では、核酸分子は、scFvをコードする。いくつかの実施形態では、核酸分子は、開示される抗体または抗原結合性断片を産生するために、宿主細胞（例えば、哺乳動物細胞）において発現され得る。

【0297】

遺伝コードは、種々の機能的に等価な核酸配列、例えば、配列が異なるが同じ抗体配列をコードする核酸、または V_L および／もしくは V_H 核酸配列を含むコンジュゲートもしくは融合タンパク質をコードする核酸を構築するために使用され得る。

【0298】

hMPV Fタンパク質に特異的に結合する抗体、抗原結合性断片およびコンジュゲートをコードする核酸分子は、例えば、適切な配列のクローニングが含まれる任意の適切な方法によって、または標準的な方法による直接的化学合成によって、調製され得る。化学合成は、一本鎖オリゴヌクレオチドを産生する。これは、相補配列とのハイブリダイゼーションによって、または単一の鎖を鋳型として使用するDNAポリメラーゼによる重合によって、二本鎖DNAに変換され得る。

【0299】

例示的な核酸は、クローニング技法によって調製され得る。適切なクローニングおよび配列決定技法の例は、例えば、Green and Sambrook (Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 4th ed., New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2012)およびAusubel et al. (Eds.) (Current Protocols in Molecular Biology, New York: John Wiley and Sons, including

supplements)において見出され得る。

【0300】

核酸は、増幅法によっても調製され得る。増幅法には、ポリメラーゼ連鎖反応（PCR）、リガーゼ連鎖反応（LCR）、転写ベースの増幅系（TAS）および自己持続配列複製系（3SR）が含まれる。

【0301】

核酸分子は、組換え的に操作された細胞、例えば、細菌、植物、酵母、昆虫および哺乳動物細胞において発現され得る。抗体、抗原結合性断片およびコンジュゲートは、 V_H および／もしくは V_L を含む個々のタンパク質（必要に応じて、エフェクター分子もしくは検出可能なマーカーに連結された）として発現され得るか、または融合タンパク質として発現され得る。抗体および抗原結合性断片を発現および精製する任意の適切な方法が使用され得る；非限定的な例は、Al-Rubeai (Ed.), *Antibody Expression and Production*, Dordrecht; New York: Springer, 2011)に提供されている。イムノアドヘシンもまた発現され得る。したがって、一部の例では、 V_H および V_L ならびにイムノアドヘシンをコードする核酸が提供される。核酸配列は、必要に応じて、リーダー配列をコードし得る。

【0302】

s c F vを創出するために、 V_H をコードするDNA断片および V_L をコードするDNA断片は、 V_H および V_L 配列が連続する単鎖タンパク質として発現され得、 V_L および V_H ドメインが柔軟性のあるリンカーによって接続されるように、柔軟性のあるリンカーをコードする、例えば、アミノ酸配列（Gly₄-Ser₃）をコードする別の断片に、動作可能に連結され得る（例えば、Bird et al., *Science*, 242(4877):423-426, 1988; Huston et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 85(16):5879-5883, 1988; McCafferty et al., *Nature*, 348:552-554, 1990; Kontermann and Dubel (Eds.), *Antibody Engineering*, Vols. 1-2, 2nd ed., Springer-Verlag, 2010; Greenfield (Ed.), *Antibodies: A Laboratory Manual*, 2nd ed. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2014を参照されたい）。必要に応じて、切断部位、例えば、フューリン切断部位が、リンカー中に含まれ得る。

【0303】

単鎖抗体は、単一の V_H および V_L のみが使用される場合には一価であり得、2つの V_H および V_L が使用される場合には二価であり、または2つよりも多くの V_H および V_L が使用される場合には多価である。hMPV Fタンパク質および別の抗原に特異的に結合する二特異性または多価抗体が生成され得る。コードされる V_H および V_L は、必要に応じて、 V_H ドメインと V_L ドメインとの間に、フューリン切断部位を含み得る。

【0304】

抗体、抗原結合性断片またはコンジュゲートをコードする1つまたは複数のDNA配列は、適切な宿主細胞中へのDNA移入によって*in vitro*で発現され得る。細胞は、原核生物または真核生物であり得る。E. coli、他の細菌宿主、酵母ならびに種々の高等真核生物細胞、例えば、COS、CHO、HeLaおよび骨髓腫細胞系が含まれる、タンパク質の発現のために利用可能な多数の発現系が、開示される抗体および抗原結合性断片を発現させるために使用され得る。外来DNAが宿主中で継続的に維持されることを意味する安定な移入の方法が使用され得る。目的の抗体を発現するハイブリドーマもまた、本開示によって包含される。

【0305】

本明細書に記載される抗体および抗原結合性断片をコードする核酸の発現は、DNAまたはcDNAをプロモーター（構成的または誘導性のいずれかである）に作動可能に連結し、その後、発現カセット中に取り込むことによって、達成され得る。プロモーターは、サイトメガロウイルスプロモーターが含まれる、目的の任意のプロモーターであり得る。必要に応じて、エンハンサー、例えば、サイトメガロウイルスエンハンサーが、構築物中

に含められる。カセットは、原核生物または真核生物のいずれかにおける複製および組込みに適切であり得る。典型的な発現カセットは、タンパク質をコードするDNAの発現の調節に有用な特定の配列を含有する。例えば、発現カセットは、適切なプロモーター、エンハンサー、転写および翻訳ターミネーター、開始配列、タンパク質コード遺伝子の前の開始コドン（即ち、ATG）、イントロンのためのスプライシングシグナル、mRNAの適切な翻訳を可能にするためのその遺伝子の正確なリーディングフレームの維持のための配列、ならびに停止コドンを含み得る。ベクターは、選択可能なマーカー、例えば、薬物耐性（例えば、アンピシリンまたはテトラサイクリン耐性）をコードするマーカーをコードし得る。

【0306】

クローニングされた遺伝子の高レベル発現を得るために、例えば、転写を指示する強いプロモーター、翻訳開始のためのリボソーム結合部位（例えば、内部リボソーム結合配列）および転写／翻訳ターミネーターを含有する発現カセットを構築することが望ましい。E. coli について、これは、プロモーター、例えば、T7、trp、lacまたはラムダプロモーター、リボソーム結合部位、および好ましくは、転写終結シグナルを含み得る。真核生物細胞について、制御配列には、例えば、免疫グロブリン遺伝子、HTLV、SV40またはサイトメガロウイルスに由来するプロモーターおよび／またはエンハンサー、ならびにポリアデニル化配列が含まれ得、スプライスドナーおよび／またはアクセプター配列（例えば、CMVおよび／またはHTLVスプライスアクセプターおよびドナー配列）がさらに含まれ得る。カセットは、任意の適切な方法、例えば、E. coli については形質転換または電気穿孔、および哺乳動物細胞についてはリン酸カルシウム処理、電気穿孔またはリポフェクションによって、選択された宿主細胞中に移入され得る。カセットによって形質転換された細胞は、カセット中に含有される遺伝子、例えば、amp、gpt、neoおよびhyg遺伝子によって付与される、抗生物質に対する耐性によって選択され得る。

【0307】

改変は、その生物学的活性を減退させることなしに、本明細書に記載されるポリペプチドをコードする核酸に対して行われ得る。一部の改変は、融合タンパク質のクローニング、発現、または融合タンパク質中へのターゲティング分子の取込みを容易にするために行われ得る。かかる改変には、例えば、終結コドン、都合よく位置する制限部位を創出するための配列、および開始部位を提供するためにアミノ末端にメチオニンを付加する配列、または精製ステップを補助するための追加のアミノ酸（例えば、ポリHis）を付加する配列が含まれる。

【0308】

発現されると、抗体、抗原結合性断片およびコンジュゲートは、硫酸アンモニウム沈殿、親和性カラム、カラムクロマトグラフィーなどが含まれる、当該分野の標準的な手順に従って精製され得る（一般には、Simpson et al. (Eds.), Basic methods in Protein Purification and Analysis: A Laboratory Manual, New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2009を参照されたい）。抗体、抗原結合性断片およびコンジュゲートは、100%純粋である必要はない。所望により、部分的に、または均一になるまで精製されると、予防的に使用される場合、ポリペプチドは、内毒素を実質的に含むべきではない。

【0309】

哺乳動物細胞および細菌、例えば、E. coli からの、抗体、抗原結合性断片およびコンジュゲートの発現、ならびに／または適切な活性形態への再フォールディングのための方法は記載されており、本明細書で開示される抗体に適用可能である。例えば、Greenfield (Ed.), Antibodies: A Laboratory Manual, 2nd ed. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2014, Simpson et al. (Eds.), Basic methods in Protein Purification and Analysis: A Laboratory Manual, New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 200

9およびWard et al., Nature 341(6242):544-546, 1989を参照されたい。

【0310】

D. 方法および組成物

1. hMPV感染を阻害する

対象におけるhMPV感染の阻害のための方法が、本明細書で開示される。これらの方法は、対象に、開示される抗体、抗原結合性断片、コンジュゲート、またはかかる抗体、抗原結合性断片もしくはコンジュゲートをコードする核酸の有効量（即ち、対象においてhMPV感染を阻害するのに有効な量）を、hMPV感染のリスク状態にあるまたはhMPV感染を有する対象に投与するステップを含む。これらの方法は、曝露前または曝露後に使用され得る。

【0311】

方法が有効であるためには、hMPV感染が完全に除外または阻害される必要はない。例えば、この方法は、処置の非存在下でのhMPV感染と比較して、hMPV感染を、所望の量、例えば、少なくとも10%、少なくとも20%、少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも98%、またはさらには少なくとも100%（検出可能なhMPV感染の除外または予防）減少させることができる。一部の実施形態では、対象は、追加の薬剤、例えば、抗ウイルス剤の有効量でも処置され得る。

【0312】

一部の実施形態では、開示される抗体、抗原結合性断片、コンジュゲートまたは核酸分子の有効量の投与は、対象におけるhMPV活性（例えば、成長または侵入）またはhMPV感染の症状における任意の統計的に有意な低減を包含し得る、対象におけるhMPV感染の確立および／または引き続く疾患進行を阻害する。抗体、抗原結合性断片、コンジュゲートまたは核酸分子は、全身性または局所投与が含まれる任意の投与経路によって投与され得る。一実施形態では、投与は、鼻腔内投与である。別の実施形態では、投与は、例えば、吸入によって、肺中へである。さらなる実施形態では、投与は、筋肉内である。

【0313】

対象におけるhMPV複製の阻害のための方法が、本明細書で開示される。これらの方法は、対象に、開示される抗体、抗原結合性断片、コンジュゲート、またはかかる抗体、抗原結合性断片もしくはコンジュゲートをコードする核酸の有効量（即ち、対象においてhMPV複製を阻害するのに有効な量）を、hMPV感染のリスク状態にあるまたはhMPV感染を有する対象に投与するステップを含む。これらの方法は、曝露前または曝露後に使用され得る。

【0314】

対象においてhMPV感染を処置するための方法が開示される。対象においてhMPV感染を予防するための方法もまた、開示される。これらの方法は、本明細書で開示される、1つまたは複数のhMPV Fタンパク質特異的抗体、抗原結合性断片、二特異性抗体、コンジュゲート、もしくはかかる分子をコードする核酸分子、またはかかる分子を含む組成物を投与するステップを含む。

【0315】

抗体およびその抗原結合性断片は、全身的に、例えば、静脈内注入または筋肉内投与によって、投与され得る。抗体およびその抗原結合性断片は、鼻腔内で、筋肉内で、または例えば、吸入によって肺中に、投与され得る。抗体または抗原結合性断片の用量は変動するが、一般には、約0.5mg/kg～約50mg/kgの間の範囲、例えば、約1mg/kg、約5mg/kg、約10mg/kg、約20mg/kg、約30mg/kg、約40mg/kgまたは約50mg/kgの用量である。一部の実施形態では、抗体または抗原結合性断片の用量は、約0.5mg/kg～約5mg/kg、例えば、約1mg/kg、約2mg/kg、約3mg/kg、約4mg/kgまたは約5mg/kgの用量であり得る。抗体または抗原結合性断片は、医師によって決定される投薬スケジュールに従って投与される。一部の例では、抗体または抗原結合性断片は、1週間に1回、2週間毎、

10

20

30

40

50

3週間毎または4週間毎に投与される。

【0316】

一部の実施形態では、対象においてhMPV感染を阻害する方法は、対象への1つまたは複数の追加の薬剤の投与をさらに含む。目的の追加の薬剤には、抗ウイルス剤が含まれるがこれに限定されない。

【0317】

一部の実施形態では、この方法は、本明細書で開示されるhMPV Fタンパク質に特異的に結合する第1の抗体およびこれもまたhMPV Fタンパク質、例えば、hMPV Fタンパク質の異なるエピトープに特異的に結合する第2の抗体の投与を含む。一部の実施形態では、第1の抗体は、MPV86、MPV414、MPV454、MPV456、MPV464、MPV467、MPV477、MPV478、MPV481、MPV482、MPV483、MPV485、MPV486、MPV487、MPV488、MPV489、MPV491またはMPV503のうちの1つである。さらなる実施形態では、第2の抗体は、DDS7またはMPE8である。より多くの実施形態では、第1の抗体は、MPV86、MPV414、MPV454、MPV456、MPV464、MPV467、MPV477、MPV478、MPV481、MPV482、MPV483、MPV485、MPV486、MPV487、MPV488、MPV489、MPV491またはMPV503のうちの1つであり、第2の抗体は、MPV86、MPV414、MPV454、MPV456、MPV464、MPV467、MPV477、MPV478、MPV481、MPV482、MPV483、MPV485、MPV486、MPV487、MPV488、MPV489、MPV491またはMPV503のうちの別のものである。MPV86、MPV414、MPV454、MPV456、MPV464、MPV467、MPV477、MPV478、MPV481、MPV482、MPV483、MPV485、MPV486、MPV487、MPV488、MPV489、MPV491またはMPV503のうちの1つ、2つ、3つまたは4つ、5つまたは6つの有効量が、対象に投与され得る。非限定的な一例では、この方法は、MPV467の有効量を対象に投与するステップを含む。この方法は、1つまたは複数の追加の抗体の有効量を投与するステップを含み得る。

【0318】

一部の実施形態では、対象には、例えば、対象の細胞機構を使用してin vivo抗体産生を提供するために、開示される抗体をコードするDNAまたはRNAが投与される。核酸投与の任意の適切な方法が使用され得る；非限定的な例は、米国特許第5,643,578号、米国特許第5,593,972号および米国特許第5,817,637号に提供されている。米国特許第5,880,103号は、生物へのタンパク質をコードする核酸の送達のいくつかの方法を記載している。核酸の投与のための1つのアプローチは、プラスミドDNA、例えば、哺乳動物発現プラスミドを用いた直接投与である。開示される抗体またはその抗原結合性断片をコードするヌクレオチド配列は、発現を増加させるために、プロモーターの制御下に置かれ得る。これらの方法は、核酸のリポソーム送達を含む。かかる方法は、抗体またはその抗原結合性断片の産生に適用され得る。一部の実施形態では、開示される抗体または抗原結合性断片は、pVRC8400ベクター（参照により本明細書に組み込まれる、Barouch et al., J. Virol., 79(14), 8828-8834, 2005に記載されている）を使用して、対象において発現される。

【0319】

いくつかの実施形態では、対象（例えば、hMPV感染のリスク状態にあるまたはhMPV感染を有するヒト対象）には、開示される抗体または抗原結合性断片をコードする1つまたは複数の核酸分子を含むAAVウイルスベクターの有効量が投与され得る。AAVウイルスベクターは、開示される抗体または抗原結合性断片をコードする核酸分子の発現のために設計され、対象へのAAVウイルスベクターの有効量の投与は、対象における有効量の抗体または抗原結合性断片の発現をもたらす。開示される抗体または抗原結合性断片を対象において発現させるために使用され得るAAVウイルスベクターの非限定的な例

には、Johnson et al., Nat. Med., 15(8):901-906, 2009およびGardner et al., Nature, 519(7541):87-91, 2015に提供されるものが含まれ、これらは各々、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【0320】

一実施形態では、開示される抗体またはその抗原結合性断片をコードする核酸は、組織中に直接導入される。例えば、核酸は、標準的な方法によって金マイクロスフェア上に負荷され得、Bio-RadのHELIO S (商標) Gene Gunなどのデバイスによって皮膚中に導入され得る。核酸は、強いプロモーターの制御下のプラスミドからなる、「裸」であり得る。

【0321】

典型的には、DNAは、筋肉中に注射されるが、他の部位中に直接注入することもできる。注射のための投薬量は、通常、およそ $0.5 \mu\text{g}/\text{kg}$ ～約 $50 \text{mg}/\text{kg}$ であり、典型的には、約 $0.005 \text{mg}/\text{kg}$ ～約 $5 \text{mg}/\text{kg}$ である（例えば、米国特許第5,589,466号を参照されたい）。

【0322】

開示されるhMPV Fタンパク質特異的抗体、抗原結合性断片、コンジュゲート、またはかかる分子をコードする核酸分子を含む組成物の単一または複数回の投与は、患者によって要求され耐容性が示される投薬量および頻度に依存して、投与され得る。投薬量は、1回投与され得るが、所望の結果が達成されるまで、または副作用が治療の中断の正当な理由となるまで、定期的に投与され得る。一般に、用量は、患者に対して許容されない毒性を生じることなしに、hMPV感染を阻害するのに十分である。

【0323】

細胞培養アッセイおよび動物研究から得られたデータは、ヒトでの使用のための投薬量の範囲を製剤化するために使用され得る。投薬量は通常、毒性をほとんど伴わずまたは最小限の毒性を伴って、ED₅₀が含まれる循環濃度の範囲内に入る。投薬量は、使用される投薬形態および利用される投与経路に依存して、この範囲内で変動し得る。有効用量は、細胞培養アッセイおよび動物研究から決定され得る。

【0324】

hMPV Fタンパク質特異的抗体、抗原結合性断片、二特異性抗体、コンジュゲート、もしくはかかる分子をコードする核酸分子、またはかかる分子を含む組成物は、局所および全身性投与が含まれる種々の方法で、例えば、皮下、静脈内、動脈内、腹腔内、筋肉内、皮内またはくも膜下腔内などの注射によって、対象に投与され得る。ある実施形態では、抗体、抗原結合性断片、二特異性抗体、コンジュゲート、もしくはかかる分子をコードする核酸分子、またはかかる分子を含む組成物は、単一の皮下、静脈内、動脈内、腹腔内、筋肉内、皮内またはくも膜下腔内注射によって、1日1回投与される。抗体、抗原結合性断片、二特異性抗体、コンジュゲート、もしくはかかる分子をコードする核酸分子、またはかかる分子を含む組成物はまた、疾患の部位またはその近傍において、直接的注射によって投与され得る。投与のさらなる方法は、所定の期間にわたる抗体、抗原結合性断片、コンジュゲート、もしくはかかる分子をコードする核酸分子、またはかかる分子を含む組成物の制御された、持続的なおよび／または徐放性の送達を可能にする浸透圧ポンプ（例えば、Alzetポンプ）またはミニポンプ（例えば、Alzetミニ浸透圧ポンプ）による。浸透圧ポンプまたはミニポンプは、皮下に、または標的部位の近傍にインプラントされ得る。

【0325】

2. 組成物

本明細書で開示されるhMPV Fタンパク質特異的抗体、抗原結合性断片、コンジュゲート、またはかかる分子をコードする核酸分子のうちの1つまたは複数を薬学的に許容される担体中に含む組成物が、提供される。一部の実施形態では、組成物は、本明細書で開示されるMPV86、MPV414、MPV454、MPV456、MPV464、MPV467、MPV477、MPV478、MPV481、MPV482、MPV483

、MPV485、MPV486、MPV487、MPV488、MPV489、MPV491もしくはMPV503抗体またはその抗原結合性断片を含む。一部の実施形態では、組成物は、hMPV Fタンパク質に特異的に結合する2つ、3つ、4つまたはそれよりも多くの抗体を含む。具体的な非限定的な例では、抗体は、MVP467である。組成物は、例えば、hMPV感染の阻害または検出のためなどに有用である。組成物は、対象への投与のために単位投薬形態で調製され得る。所望の目的を達成するための投与の量およびタイミングは、投与する医師の裁量である。抗体、抗原結合性断片、コンジュゲート、またはかかる分子をコードする核酸分子は、全身性または局所投与のために製剤化され得る。一例では、抗原結合性断片、コンジュゲート、またはかかる分子をコードする核酸分子は、非経口投与、例えば、静脈内投与のために製剤化される。

10

【0326】

一部の実施形態では、組成物中の抗体、抗原結合性断片またはそのコンジュゲートは、少なくとも70%（例えば、少なくとも75%、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%または少なくとも99%）純粋である。一部の実施形態では、組成物は、10%未満（例えば、5%未満、4%未満、3%未満、2%未満、1%未満、0.5%未満またはさらに少ない）の高分子夾雑物、例えば、他の哺乳動物（例えば、ヒト）タンパク質を含有する。

【0327】

投与のための組成物には、薬学的に許容される担体、例えば、水性担体中に溶解された、抗体、抗原結合性断片、コンジュゲート、またはかかる分子をコードする核酸分子の溶液が含まれ得る。種々の水性担体、例えば、緩衝食塩水などが使用され得る。これらの溶液は無菌であり、一般に、望ましくないものを含まない。これらの組成物は、任意の適切な技法によって滅菌され得る。組成物は、生理的条件に近づけるために必要とされる薬学的に許容される補助物質、例えば、pH調整剤および緩衝剤、毒性調整剤など、例えば、酢酸ナトリウム、塩化ナトリウム、塩化カリウム、塩化カルシウム、乳酸ナトリウムなどを含有し得る。これらの製剤中の抗体の濃度は、広く変動し得、選択された特定の投与様式および対象の要求に従って、流体体積、粘度、体重などに主に基づいて選択される。

20

【0328】

静脈内投与のための典型的な組成物は、1日1対象当たり約0.01~約30mg/kgの抗体もしくは抗原結合性断片またはコンジュゲート（または抗体もしくは抗原結合性断片を含むコンジュゲートの対応する用量）を含む。任意の適切な方法が、投与可能な組成物を調製するために使用され得る；非限定的な例は、Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 22nd ed., London, UK: Pharmaceutical Press, 2013などの刊行物中に提供される。一部の実施形態では、組成物は、約0.1mg/ml~約20mg/ml、または約0.5mg/ml~約20mg/ml、または約1mg/ml~約20mg/ml、または約0.1mg/ml~約10mg/ml、または約0.5mg/ml~約10mg/ml、または約1mg/ml~約10mg/mlの濃度範囲で1つまたは複数の抗体、抗原結合性断片（例えば、PfCSPに特異的に結合する抗体または抗原結合性断片）を含む液体製剤であり得る。

30

40

【0329】

抗体もしくはその抗原結合性断片またはコンジュゲートあるいはかかる分子をコードする核酸は、凍結乾燥形態で提供され得、投与前に無菌水で再水和され得るが、既知の濃度の無菌溶液中でも提供される。次いで、抗体溶液、あるいは抗原結合性断片またはかかる抗体もしくは抗原結合性断片をコードする核酸は、0.9%の塩化ナトリウム、USPを含有する注入バッグに添加され得、0.5~15mg/kg体重の投薬量で典型的には投与され得る。かなりの経験が、1997年のリツキシマブの承認以来米国において市販されてきた抗体薬物の投与において、当該分野で利用可能である。抗体、抗原結合性断片、コンジュゲート、またはかかる分子をコードする核酸は、静脈内プッシュまたはボラスではなく、緩徐な注入によって投与され得る。一例では、より高い負荷用量が投与され、

50

引き続いて、維持用量がより低いレベルで投与される。例えば、 $4\text{ mg} / \text{kg}$ の初期負荷用量が、数回の90分間の期間にわたって注入され得、その後、以前の用量に十分な耐容性が示された場合には、4～8週間にわたり1週間に1回の $2\text{ mg} / \text{kg}$ の維持用量が、30分間の期間にわたって注入され得る。

【0330】

制御放出非経口製剤は、インプラント、油性注射または粒状の系として作製され得る。タンパク質送達系の広い概説については、Banga, *Therapeutic Peptides and Proteins: Formulation, Processing, and Delivery Systems*, Lancaster, PA: Technomic Publishing Company, Inc., 1995を参照されたい。粒状の系には、マイクロスフェア、マイクロ粒子、マイクロカプセル、ナノカプセル、ナノスフェアおよびナノ粒子が含まれる。マイクロカプセルは、中心コアとして、活性タンパク質薬剤、例えば、細胞毒または薬物を含有する。マイクロスフェア中では、活性タンパク質薬剤は、粒子中に分散されている。約 $1\text{ }\mu\text{m}$ よりも小さい粒子、マイクロスフェアおよびマイクロカプセルは、一般に、それぞれナノ粒子、ナノスフェアおよびナノカプセルと呼ばれる。毛細血管は、およそ $5\text{ }\mu\text{m}$ の直径を有し、したがって、ナノ粒子のみが静脈内投与される。マイクロ粒子は、典型的には、直径がおおよそ $100\text{ }\mu\text{m}$ であり、皮下または筋肉内投与される。例えば、Kreuter, *Colloidal Drug Delivery Systems*, J. Kreuter (Ed.), New York, NY: Marcel Dekker, Inc., pp. 219-342, 1994; および Tice and Tabibi, *Treatise on Controlled Drug Delivery: Fundamentals, Optimization, Applications*, A. Kydonieus (Ed.), New York, NY: Marcel Dekker, Inc., pp. 315-339, 1992を参照されたい。

10

20

【0331】

ポリマーは、本明細書で開示される抗体組成物のイオン制御放出のために使用され得る。任意の適切なポリマー、例えば、制御された薬物送達における使用のために設計された分解性または非分解性ポリマー性マトリクスが使用され得る。あるいは、ヒドロキシアパタイトが、タンパク質の制御放出のためのマイクロ担体として使用されている。さらに別の態様では、リボソームが、脂質カプセル化薬物の制御放出ならびに薬物ターゲティングに使用される。

【0332】

2. 検出および診断の方法

*in vitro*または*in vivo*でのhMPV Fタンパク質の存在の検出のための方法もまた提供される。一例では、hMPV Fタンパク質の存在は、対象由来の生物学的試料において検出され、hMPV感染を有する対象を同定するために使用され得る。試料は、生検、剖検および病理検体由来の組織が含まれるがこれらに限定されない、任意の試料であり得る。生物学的試料には、組織の切片、例えば、組織学的目的のために取得された凍結切片もまた含まれる。生物学的試料には、体液、例えば、血液、血清、血漿、痰、髄液または尿がさらに含まれる。検出の方法は、細胞または試料を、hMPV Fタンパク質に特異的に結合する抗体もしくは抗原結合性断片、またはそのコンジュゲート（例えば、検出可能なマーカーを含むコンジュゲート）と、免疫複合体を形成するのに十分な条件下で接触させるステップ、および免疫複合体を検出するステップ（例えば、抗体または抗原結合性断片にコンジュゲートされた検出可能なマーカーを検出することによる）を含み得る。

30

40

【0333】

一実施形態では、抗体または抗原結合性断片は、検出可能なマーカーで直接標識される。別の実施形態では、hMPV Fタンパク質に結合する抗体（一次抗体）は、未標識であり、一次抗体に結合することができる二次抗体または他の分子が、検出に利用される。特定の種およびクラスの第1の抗体に特異的に結合することができる二次抗体が選択される。例えば、第1の抗体がヒトIgGである場合、二次抗体は、抗ヒトIgGであり得る。抗体に結合することができる他の分子には、プロテインAおよびプロテインGが含まれるがこれらに限定されず、これらは共に、市販されている。抗体、抗原結合性断片または

50

二次抗体のための適切な標識は、公知であり、上記されており、それには、種々の酵素、補欠分子族、蛍光材料、発光材料、磁性薬剤および放射性材料が含まれる。

【0334】

一部の実施形態では、開示される抗体またはその抗原結合性断片は、ワクチンを試験するために、例えば、hMPV Fタンパク質またはその断片を含むワクチン組成物が、開示される抗体のエピトープを含む融合前コンフォメーションを取るかどうかを試験するために、使用される。したがって、ワクチンを試験するための方法が本明細書で提供され、この方法は、ワクチン、例えば、hMPV Fタンパク質免疫原を含有する試料を、開示される抗体または抗原結合性断片と、免疫複合体の形成に十分な条件下で接触させるステップ、および試料中の免疫複合体を検出して、目的のエピトープを含むワクチンを検出するステップを含む。一例では、試料中の免疫複合体の検出は、ワクチン成分、例えば、hMPV Fタンパク質免疫原が、抗体または抗原結合性断片に結合することが可能なコンフォメーションを取ることを示す。

10

【0335】

本発明の原理が適用され得る多くの可能な実施形態を考慮して、例示された実施形態は、本発明の例に過ぎず、本発明の範囲に対する限定とみなすべきではないことを認識すべきである。むしろ、本発明の範囲は、以下の請求項によって定義される。したがって、本発明者らは、これらの請求項の範囲および精神内に入る全てを、本発明者らの発明として特許請求する。

20

【実施例】

【0336】

ヒトメタニューモウイルス (hMPV) は、世界中で小児における罹患率および入院の主要原因であるが、hMPV 疾患の予防および処置のために現在利用可能なワクチンも治療薬も存在しない。hMPV 融合 (F) タンパク質は、中和抗体の唯一の標的である。hMPV Fタンパク質上の免疫優性エピトープをマッピングするために、18個のヒトモノクローナル抗体 (mAb) を単離し、これらのmAbを、結合アビディティ、中和効力およびエピトープ特異性について評価した。mAbの大多数は、hMPV Fタンパク質上の多様なエピトープを標的にし、複数のmAb結合アプローチが、抗原性部位IIIについて発見された。最も強力なmAbであるMPV467を、予防的および治療的マウスチャレンジ研究において試験したところ、MPV467は、ウイルス感染の24時間前または72時間後に投与した場合、マウス肺においてウイルス複製を制限した。さらに、この抗体は、コットンラット (*Sigmodon hispidus*) モデルにおいて有効であることが示された。hMPV Fタンパク質との複合体中のMPV467の構造を、cryo-電子顕微鏡法を使用して3.3 Åの解像度で決定したところ、単一のプロトマー上の抗原性部位IIおよびVが重なり合った複雑な融合前特異的エピトープが明らかになった。このデータは、hMPV Fタンパク質上の免疫優性抗原性エピトープに関する新たな洞察を明らかにし、hMPV F疾患の予防および処置のための新たなmAb治療を同定し、hMPV Fタンパク質上の独自の融合前特異的エピトープの発見を提供した。

30

【0337】

40

(実施例1)

ヒトモノクローナル抗体配列決定基

hMPV Fタンパク質上の抗原性エピトープをさらに定義するために、18個の新たなヒトmAbを、hMPV B2 Fタンパク質を使用して単離し (Biacchesi et al., J. Virol. 78, 12877-12887 (2004))、16個のmAbはヒトハイブリドーマ技術を介して生成したが、2つは、抗原特異的単一B細胞選別から誘導した (MPV491、503)。抗体コード遺伝子を配列決定したところ、結果は、パネル全体にわたる免疫グロブリンV遺伝子の多様なセットの使用法を示した (図1A)。VH1-69遺伝子を利用するmAbが、最も豊富であった。VH3およびVH4遺伝子ファミリーは、追加のmAbの大多数を構成した。軽鎖においても多様性が存在し、8つおよび5つの独自

50

の遺伝子がそれぞれ、カップおよびラムダmAbのために利用された。カップアイソタイプmAbは、VK1、VK2、VK3およびVK4遺伝子ファミリーを利用したが、ラムダアイソタイプmAbは、VL1およびVL3遺伝子ファミリーを使用した。重鎖および軽鎖の接合部の長さは、重鎖については14～23アミノ酸、カップ鎖については8～10アミノ酸、ラムダ鎖については9～11アミノ酸の範囲であった（図1B）。生殖系列配列に対する可変遺伝子のパーセント同一性は、重鎖については88～97%（平均93.6%）および軽鎖については90～97%（平均93.7%）の範囲であった（図1C）。

【0338】

（実施例2）

mAb結合および機能的特性

各mAbの中和活性を、hMPVの各遺伝子型からの代表的なウイルス、即ち、hMPV CAN/97-83（遺伝子型A）およびhMPV TN/93-32（遺伝子型B）を使用するプラーク低減アッセイによって決定した（図6、図10）。全てのmAbが、両方の遺伝子型からのウイルスに対して中和活性を有し、mAb MPV467、MPV487、MPV454、MPV482およびMPV488は、hMPV CAN/97-83に対して20ng/mLを下回る中和活性を有した。mAb MPV467、MPV487およびMPV454は、hMPV CAN/97-83およびhMPV TN/93-32の両方に対して最も強力な中和活性を有し、MPV467は、hMPV TN/93-32に対して、ピコモル濃度の活性（1ng/mLを下回る）に達する。mAb MPV86、MPV488、MPV485およびMPV477は、hMPV TN/93-32と比較して多くても20分の1のIC₅₀に基づく、hMPV CAN/97-83の優先的な中和を実証した。mAbの結合特性を、融合前hMPV Fおよび融合後hMPV Fの混合物を含有する各サブグループからのhMPV Fタンパク質（hMPV A1 F、hMPV A2 F、hMPV B1 F、hMPV B2 F）のパネルを使用して評価した。排他的にモノマー性の融合前hMPV F、融合後hMPV Fおよび優勢にトリマー性の融合前hMPV F（hMPV B2 F GCN4）を含有する追加の構築物へのmAb結合もまた評価した。いくつかの結合パターンが観察された。MPV487、MPV482、MPV503、MPV414、MPV86およびMPV488は、融合後F構築物への限定的な結合を有し、融合前構築物への結合を好んだ。mAb MPV467、MPV454、MPV477、MPV486およびMPV464は、融合前構築物および融合後構築物の両方に結合したが、融合前タンパク質に対してより高い結合親和性を有した。mAb MPV478、MPV483、MPV481、MPV456、MPV491、MPV489およびMPV485は、融合前構築物および融合後構築物の両方に等しく結合した。

【0339】

（実施例3）

エピトープマッピング

18個のmAbのパネルについて一般的な結合エピトープを決定するために、エピトープビニング実験を、以前に記載されたように、バイオレイヤー干渉法を使用して実施した（Huang and Mousa, PLOS Pathog. 16, e1008942 (2020); Bar-Peled et al., J. Virol. 93, e00342--19 (2019)）。バイオセンサーに、試験mAbと会合したhMPV B2融合前Fタンパク質をロードし、次いで、公知のエピトープを有する対照mAbに曝露させて、競合プロファイルを決定した（図2A）。公知のhMPVエピトープを標的とする対照mAbには、mAb MPE8およびMPV364（部位III）、DS7およびMPV196（DS7エピトープ）、101F（部位IV）、ならびにMPV458（66～87トリマー内エピトープ）が含まれた（図2B）。MPV481およびMPV483は、抗原性部位IVにマッピングされたが、MPV454は、101FおよびDS7の両方と競合し、これは、MPV454が部位IVとDS7部位との間の中間のエピトープに結合することを示唆している（図2B）。しかし、MP

V454は、DS7と競合する以前に同定されたMPV196とは競合しなかった。MPV464、MPV491、MPV485およびMPV477は、MPV196、MPV201およびMPV314を用いた本発明者らの以前の結果(Bar-Peled et al., J. Virol. 93, e00342--19 (2019))と類似して、MPE8およびDS7の両方と競合した。mAb MPV86、MPV414、MPV482、MPV487およびMPV503は、「MPV364様」であり、MPE8およびMPV364と競合したが、DS7とは競合しなかった。抗原性部位IIIにおけるこの差次的結合様式は、DS7との競合またはその欠如によって以前に定義されている(Bar-Peled et al., J. Virol. 93, e00342--19 (2019))。トリマー内ターゲティングMPV458と競合することが観察されたmAbは存在しなかったが、中間の競合が、いくつかのmAbとMPV458との間で観察され、これは、これらが、MPV458の結合を部分的に遮断し得ること、またはMPV458が結合する、アミノ酸66~87を中心とするトリマー内エピトープの曝露を制限し得ることを示唆している。MPV488およびMPV489は、MPE8との部分的競合を有したが、MPV364とは有さず、一方で、MPV467およびMPV456は、MPV364との部分的競合を有したが、MPE8とは有さず、これは、追加のエピトープが抗原性部位III近傍に存在することを示唆している。MPV486およびMPV478は、ほぼ全てのmAbとの部分的競合を示し、それらのエピトープを定義することができなかった。

10

【0340】

(実施例4)

20

hMPV F特異的mAbは、THP-1細胞の抗体依存的ファゴサイトーシスを増強する

異なるhMPV F抗原性部位に結合する抗体を選択して、抗体依存的食作用活性を評価した(図3)。試験した全てのmAbが、ブランクおよびアイソタイプ対照mAb(Streptococcus pneumoniaeに結合するmAbであるPhTD3)対照と比較して、in vitroで、THP-1細胞のファゴサイトーシスを有意に増強した。DS7部位に結合する抗体は、全体的により高い食作用スコアを示したが、mAbの残りは、ADP活性が変動した。さらに、EC50/IC50とmAbのADP活性との間には相関が観察されず、これは、hMPV F特異的mAbのADP活性が、Fab結合エピトープとは無関係であることを示唆している。これらのデータは、中和を超えた抗hMPV F mAbの追加の保護機構を示唆している。

30

【0341】

(実施例5)

MPV467の治療有効性

MPV467は、パネルの最も強力なmAbであり、hMPV TN/93-32に対してピコモル濃度の中和効力に達し、hMPV CAN/97-83を強力に中和する。融合後hMPV Fタンパク質に対する実質的な結合が喪失しているので、このmAbは、融合前優先特性を有する(図10)。これらのデータに基づいて、mAb MPV467の保護有効性を、BALB/cマウスにおけるhMPV感染モデルにおいて試験した。雄性および雌性マウスを、予防的研究および処置研究の両方において、hMPV感染の24時間前またはhMPV感染の3日後に、PBS、アイソタイプ対照ヒトmAbまたはmAb MPV467で処置した(図4)。5日目に、マウスの肺中のウイルス力価を、ブランクアッセイによって決定した。いずれの研究においても、MPV467で処置したマウスにおいて検出可能なウイルスは存在しなかったが、PBS処置マウスおよびアイソタイプ-mAb処置マウスの両方にウイルスが存在した。いずれの研究においても、MPV467と未感染のマウスとの間での差異は観察されず、PBSとアイソタイプ対照マウスとの間での差異は観察されなかった。

40

【0342】

(実施例6)

hMPV F-MPV467複合体の構造的定義

50

MPV 467は、今日までに記載された最も強力なhMPV F mAbであり、hMPV感染に対して保護的であり、hMPV感染を処置することができ、定義されていないエピトープを標的とするので、本発明者らは、cryo-電子顕微鏡法(cryo-EM)を使用して、3.3 Åのグローバル解像度まで、融合前hMPV Fとの複合体中のMPV 467の構造を決定した(図5A~5C)。モデル構築のための最終マップを、柔軟性のあるFab定常領域の粒子減算、およびDeepEMhancerを介した鮮明化によって生成した(Sanchez-Garcia et al., Commun. Biol. 4, 874 (2021))。構造により、MPV 467が、ウイルス膜に向かって下を向いたアプローチ角を有することが明らかになった(図5A、5B)。重鎖および軽鎖は、hMPV F上で、それぞれ567 Å²および322 Å²の表面積を占める。MPV 467エピトープは、抗原性部位IIおよびVにわたるが、抗原性部位III中の単一の残基Tyr 44とも接触する。hMPV F部位V残基Arg 156は、CDRH1およびCDRH3の両方の主鎖原子への水素結合を介したMPV 467との多数の相互作用、ならびにCDRH1 Asp 31との塩橋相互作用を生じる(図5C)。さらに、CDRH1 Asp 31はまた、部位V残基Thr 150と水素結合を形成する。コンフォメーション的に不動の抗原性部位IIは、hMPV F Asn 233およびThr 236との2つの水素結合相互作用を介して、MPV 467 CDRH3の結合を受ける。MPV 467の軽鎖とhMPV Fとの間の唯一の特異的相互作用は、CDRL1 Asn 30とhMPV F Ala 238との間での主鎖水素結合を介したものである。

10

20

【0343】

ヒトは、少なくとも70年間にわたってhMPVに曝露されてきたが(van den Hoogen et al. Nat. Med. 7, 719-724 (2001))、hMPV Fタンパク質上の優勢なエピトープは、依然としてよく分かっていない。可変領域配列分析により、hMPV F特異的mAbにおけるV_HおよびV_K/V_L遺伝子使用法の多様性が示された。これらの遺伝子のうち、V_H1-69は、18個のmAbのうちの4つ(MPV 86、MPV 414、MPV 483およびMPV 503)によって共有され、そのうち3つ(MPV 483を除く)は、MPE 8およびMPV 364と競合する類似のビニングプロファイルを示し(図2A、2B)、これは、それらが、重鎖の類似の結合パターンをおそらくは介して、同じhMPV Fエピトープに結合することを示している。結合エピトープとV遺伝子使用法との間での類似の相関が、軽鎖においても観察された。IGKV 3-11を共有するmAb MPV 86および487ならびにIGKV 3-15を共有するmAb MPV 414および503は共に、MPV 364部位に結合するが、IGLV 3-1を共有するmAb MPV 464および485は、DS7部位に結合する。mAb MPV 414およびMPV 503は、2つの異なるアプローチを使用して2人の異なる対象から同定されたが、V_H/V_K遺伝子の同じセットを有し、これは、遺伝子のこの対が、hMPV F MPV 364部位特異的mAbによって好まれ得ることを示唆している。

30

40

【0344】

hMPV F上の主要な抗原性部位をマッピングした。公知の抗原性部位III、IV、DS7部位および66~87部位に加えて、部位Vをさらに特徴付け、推定部位IIを同定した。部位IIIおよび部位IVと同様、部位Vおよび部位IIの両方の位置は、RSV F上のそれらの対応物と似ており、これは、これらの領域中のエピトープが、ヒト抗体によって認識され得る構造的特色を共有していることを示唆している。しかし、hMPV F上のRSV F部位φの対応物に結合することが見出されたmAbは存在せず、これは、このエピトープに対するmAbが、部位φ(Asn 57およびAsn 172)におけるhMPV F上のN-結合型グリカンに起因して限定され得ることをさらに示唆している(Poor et al., PNAS 111, 2596-2605 (2014))。

【0345】

最も強力なmAbであるMPV 467は、抗原性部位IIおよびVにわたって位置するエピトープに結合した。その融合前および融合後コンフォメーションでのhMPV Fの構造により、それが、関連するRSV Fタンパク質と構造的相同性を有することが明ら

50

かとなり、RSV F上の中和エピトープは、hMPV F上に対応物を有すると予想され得る。構造的に、抗原性部位φおよびVは、融合前特異的であり、以前に単離されたRSV抗体および構造的研究により、これらの領域を標的とする抗体が、高度に強力な中和因子である傾向があることが示された (Gilman et al., Sci. Immunol. 1, 1-12 (2016); Mousa et al., Nat. Microbiol. 2, 16271 (2017))。ここで、hMPV Fとの複合体中のmAb MPV 467のcryo-EM構造を用いて、このmAbが、hMPV Fについて発見された最初の部位Vターゲティング抗体の1つであること、および強力な中和の特徴を実際に共有することが決定された。MPV 467は、融合前から融合後への遷移の間に大きなコンフォメーション変化を受ける、抗原性部位V内に位置するベータヘアピン ($\beta 3 \sim \beta 4$) に結合する。理論によって束縛されないが、MPV 467エピトープのこの領域は、MPV 467の効力を担う可能性が高い。結合はしても、融合タンパク質は、効率的なウイルス感染にとって重要な融合後コンフォメーションに遷移することができない。さらに、MPV 467が結合する抗原性部位II内に位置するヘリックス-スター-ヘリックス ($\alpha 6 \sim \alpha 7$) は、融合前状態と融合後状態との間でコンフォメーション変化を受けない。この領域中の残基の結合が、MPV 467が両方のコンフォメーション状態に結合する能力が見られた理由である可能性が高い。エピトープのこの部分のみが融合後コンフォメーション中に存在するので、エピトープ全体を含む融合前コンフォメーションと比較して、結合親和性における低下が見られた。

10

【0346】

RSV/hMPV F交差反応性mAb M1C7 (Xiao, et al., MAbs 11, 1415-1427 (2019)) は、部位Vを標的とする強力な中和mAbとして以前に報告された。同様に、RSV F部位V特異的mAbであるhRSV90 (Mousa et al., Nat. Microbiol. 2, 16271 (2017)) もまた、RSVに対する低いIC₅₀ (RSV Aに対しては4 ng/mL、RSV Bに対しては10 ng/mL) を有し、これは、部位Vが、ニューモウイルスに対する超強力な中和mAbによって好まれる脆弱な領域であることを示している。RSV FおよびhMPV Fの両方の部位Vエピトープは、融合ペプチドの直後のF₁サブユニットのN末端上に位置し、トリマー性融合前Fタンパク質の中心に埋もれている。したがって、部位V中の $\alpha 3$ ヘリックスおよび $\beta 3 \sim \beta 4$ ヘアピンのコンフォメーション変化は、融合ペプチドを曝露させ、融合プロセスを開始させるために必須である。部位Vを標的とする抗体は、融合ペプチドをロックし、融合後コンフォメーション中に存在する長いらせん束の形成を防止する可能性が高い。しかし、最新の知見に基づく、hMPV部位V特異的抗体の頻度は、部位III、部位IVおよびDS7部位を標的とする抗体と比較して、相対的に低い。したがって、抗原性部位Vターゲティング抗体のブーストを、hMPV Fベースのワクチンにおいてブーストすることができた。

20

30

【0347】

(実施例7)

実施例1～6についての材料および方法

採血およびPBMC単離：インフォームドコンセントを得た後に、90 mLの血液を、静脈穿刺によって、9つのヘパリンコーティングされたチューブ中に採血し、10 mLの血液を、血清セパレーターチューブ中に収集した。末梢血単核球 (PBMC) を、Ficoll-Histopaque密度勾配遠心分離を使用してヒトドナー血液試料から単離し、PBMCを、さらなる使用まで液体窒素蒸気相中で凍結させた。

40

【0348】

組換えhMPV Fタンパク質の産生および合成：hMPV A1、A2、B1、B2 FおよびhMPV B2F-GCN4組換えタンパク質を、pcDNA3.1+ベクター中にクローニングされたGENSCRIPT (登録商標) から得られたプラスミドから合成した。これらを、アンピシリン (Thermo Scientific) 耐性100 ug/mLに対してDH5 α 細胞中に形質転換することによって、拡大増殖させた。プラスミドを、E. N. Z. A. プラスミドmaxiprepキット (Omega BioTe

50

k) を製造業者の使用説明書に従って使用して精製した。1mgのプラスミドを、OPTI-MEM (登録商標) 細胞培養培地 (Thermo Scientific) 中の4mgのポリエチレンイミン (PEI; PolySciences Inc.) と混合し、30分間インキュベートした。この後に、Freestyle 293 発現培地 (Thermo Fischer) 中 10^6 細胞/mLの293細胞に、DNA-PEI混合物を添加した。5日間のインキュベーションの後、培養物を6000gで遠心分離して、細胞をペレット化した。上清を、0.45 μ m無菌フィルターを介して濾過した。組換えタンパク質を、親和性クロマトグラフィー、HisTrap Excelカラム (GE Healthcare Life Sciences) によって直接精製した。上清をカラム上にロードする前に、これを、20mMのTris-HCl (pH7.5)、500mMのNaClおよび20mMのイミダゾールを含有する洗浄緩衝液5カラム体積 (CV) で洗浄した。上清にカラムを通過させた後、これを同じ洗浄緩衝液 (5CV) で洗浄して、非特異的結合を低減させ、20mMのTris-HCl pH7.5、500mMのNaClおよび250mMのイミダゾールを含有する緩衝液で最後に溶出させた。溶出の後、タンパク質を、30kDaの分子カットオフを有するAMICON (登録商標) Ultra-15 遠心分離ユニット (Sigma) で濃縮した。

10

【0349】

hMPV Fのトリプシン処理：トリマー性hMPV Fを得るために、TPCK (L-1-トシルアミド-2-フェニルエチルクロロメチルケトン) -トリプシン (Thermo Scientific) を、二重蒸留水 (ddH₂O) 中に2mg/mLで溶解させた。得られたhMPV B2 Fを、5 TAME (p-トルエン-スルホニル-L-アルギニンメチルエステル) 単位/mgのTPCK-トリプシンと共に37°Cで1時間インキュベートした。hMPV Fのトリマー性およびモノマー性画分を、カラム緩衝液 (50mMのTris pH7.5、および100mMのNaCl) 中でSUPERDEX (登録商標) S200、16/600カラム (GE Healthcare Life Sciences) 上でのサイズ排除クロマトグラフィーによって分離した。両方の画分を、それらの独自の溶出プロファイルによって分離した。分離したら、これらを、以前に言及したように濃縮した。融合後hMPV Fを、プールされたトリマー性画分を水浴上で55°Cで20分間加熱して融合後コンフォメーションを誘導することによって得た (Jiachen et al., J. Virol. 95, e00593-21 (2021))。

20

30

【0350】

hMPV F特異的ハイブリドーマの生成：ハイブリドーマ生成のために、ヒトドナーの血液から精製された1000万個の末梢血単核球を、6.3 μ g/mLのCpG (ホスホロチオエート改変されたオリゴデオキシヌクレオチド ZOEZOEZZZZZZOEZOEZZZZT; Invitrogen) および1 μ g/mLのシクロスポリン (Sigma) を含有する80mLのSTEMCELL (登録商標) 培地 A (STEMCELL (登録商標) Technologies) 中で、ヒトCD40L、ヒトインターロイキン-21 (IL-21) およびヒトBAFFを発現するように改変された、以前に凍結しガンマ照射したNIH 3T3細胞 (Bar-Peled et al., J. Virol. 93, e00342-19 (2019)) 800万個と混合した。細胞の混合物を、StemCell 培地 A 中で、1ウェル当たり200 μ lで4つの96ウェルプレート中にプレートした。6日後、培養物上清を、組換えhMPV B2 Fタンパク質への結合についてELISAによってスクリーニングし、陽性ウェルからの細胞を、以前に記載されたように電気融合させた (Bar-Peled et al., J. Virol. 93, e00342-19 (2019))。各キュベットからの細胞を、1 $\times$ HAT (ヒポキサンチン-アミノプテリン-チミジン; Sigma-Aldrich)、0.2 $\times$ HT (ヒポキサンチン-チミジン; Corning) および0.3 μ g/mLのウアバイン (Thermo Fisher Scientific) を含有するSTEMCELL (登録商標) 培地 A 20mL中に再懸濁し、384ウェルプレート中に1ウェル当たり50 μ lでプレートした。7日後、細胞に、25 μ lのStemCell 培地 A を供給した。ハイブリドーマの上清を、ELISAによって抗体産生について2週

40

50

間後にスクリーニングし、反応性上清を有するウェルからの細胞を、ELISAによる再度のスクリーニング前に、0.5 mLのSTEMCELL（登録商標）培地E（STEMCELL（登録商標）Technologies）中で1週間にわたって48ウェルプレートに拡大増殖させた。次いで、陽性ハイブリドーマを、75%のSTEMCELL（登録商標）培地Aプラス25%のSTEMCELL（登録商標）培地Eを含有する384ウェルプレート中への単一細胞蛍光活性化選別に供した。細胞選別の2週間後、ハイブリドーマを、ELISAによってスクリーニングし、その後、hMPV F特異的ハイブリドーマを含有するウェルをさらに拡大増殖させた。

【0351】

ハイブリドーマmAb可変ガンマ鎖および可変軽鎖についてのRT-PCR：RNAを、製造業者のプロトコールに従ってENZA総RNAキット（Omega BioTek）を使用して、拡大増殖させたハイブリドーマ細胞から単離した。High-Capacity cDNA Reverse Transcription Kit（Applied Biosystems）を、cDNA合成に使用した。3つの別々のセットのプライマーミックスを、ネステッドPCRに使用して、ガンマ、カッパおよびラムダ鎖の可変領域を増幅した（Tiller et al., J. Immunol. Methods 329, 112-124 (2008)）。2回目のPCRからの産物を、アガロースゲル電気泳動によって分析し、精製されたPCR産物（ENZA cycle pureキット；Omega Biotek）を、配列決定のためにGenewizに提出した。配列を、IMG-T/V-Questを使用して分析した（Brochet et al., Nucleic Acids Res. 36, 503-508 (2008)）。

【0352】

抗原特異的単一B細胞選別および組換えmAbの発現：1000万個のヒトPBMCを、FACS緩衝液で2回洗浄し、次いで、1 mLのFACS緩衝液で再懸濁した。細胞を、5%のFc受容体遮断剤（BIOLEGEN D（登録商標））で30分間処理し、次いで、以下の抗体で染色した：ヒトCD19-APC、ヒトIgM-FITC、ヒトIgD-FITC、GHOST DYE（商標）Red 710およびPE/BV605-ストレプトアビジンコンジュゲートhMPV B2 F。抗原特異的B細胞を、CD19+/IgM-/IgD-/Ghost色素-/PE+/BV605+でゲートし、96ウェルプレート中で1ウェル当たり1つの細胞で、捕捉緩衝液B（Qiagen TCL緩衝液+1%ベータメルカプトエタノール）中に選別した。選別された細胞を、急速冷凍し、RNA抽出のためにそれらを使用するまで、-80℃で貯蔵した。RNAを、Agencourt RNACLEAN（登録商標）XPキット、SPRI Beads（Beckman Coulter）を用いて抽出し、SUPERScript（登録商標）IV Synthesis System（ThermoFisher）を用いてcDNAへと即座に逆転写した。IgG重/軽鎖の可変領域配列を、上記のようにネステッドPCRによって決定した。V/D/J遺伝子対立遺伝子の使用法に基づいて、クローニングPCRプライマーを、第1のPCR産物を鋳型として用いるクローニングPCRのために選択した。重/軽鎖の精製されたクローニングPCR産物を、発現ベクター（AbVec-hIgG1、AbVec-hIgKappaおよびpBR322ベースのIg-ラムダ発現ベクター）中にクローニングし、プラスミドを、配列決定のためにGenewizに送った。全ての配列が正確であることを確認した後、HC/LCプラスミドを、プラスミドmaxi prepのためにDH5α中に形質転換した。組換えmAbを、293細胞にHC/LCプラスミドをトランスフェクトすることによって発現させ、プロテインGカラム（Cytiva）を用いて培養物上清から精製した。

【0353】

hMPV Fタンパク質への結合についての酵素結合免疫吸着アッセイ：ELISAに使用した384ウェルプレート（カタログ番号781162；Greiner BIO-ONE（登録商標））を、2 µg/mL（PBS中）の組換えタンパク質（抗原）でコーティングし、4℃で一晩インキュベートした。これには、プレートを水で1回洗浄し、そ

の後、PBSおよび0.05%のTween 20 (PBS-T) 中2%のヤギ血清を補充した2%のミルクから構成されるブロック緩衝液で、室温で1時間それらをブロッキングすることが伴った。プレートを、PBS-Tで再度3回洗浄した。25 μ lの連続希釈した一次抗体をウェルに添加し、室温で1時間インキュベートし、その後、PBS-Tで3回洗浄した。次に、ブロック緩衝液中に希釈したヤギ抗ヒトIgG Fc二次抗体 (Southern Biotech) (1:4000) をウェルに適用し、再度室温で1時間インキュベートした。プレートを、PBS-Tで再度3回洗浄し、9.8のpHを有する1MのTris塩基および0.5mMの塩化マグネシウムを含有する緩衝液中で1mg/mlの濃度に希釈したPNPP (p-ニトロフェニルリン酸) 25 μ lを添加した。Bio Tekプレートリーダー上で405nmで吸光度を読み取る前に、プレートをもう1回、室温で1時間インキュベートした。結合アッセイデータを、EC₅₀値を計算するために非線形回帰曲線フィットおよびlog (アゴニスト) -対-応答関数を使用して、GraphPad Prismで分析した。

10

【0354】

hMPVブランク中和実験：この実験に使用したLLC-MK2細胞を、CO₂インキュベーター中37℃で、T225細胞培養フラスコ (カタログ番号82050-870) 中で、2%の胎仔ウシ血清を補充したOpti-MEM I (Thermo Fisher Scientific) 中で成長させた。中和アッセイを開始する2日前に、40,000細胞/ウェルを、24ウェルプレート上にプレートした。ハイブリドーマ上清から単離した、連続希釈した無菌濾過したmAbを、hMPV株CAN/97-83およびTN/93-32のいずれかの懸濁物に、等しい量 (1:1) で添加し、実験の当日に1時間インキュベートした。この後、OPTI-MEM培地からの過剰なFBSをPBSで3回洗浄した後に、LLC-MK2細胞に、50 μ lのウイルス-抗体混合物を添加した。混合物を、一定に振動させながら、室温で1時間インキュベートした。次に、細胞を、5 μ g/mlのトリプシン-EDTAおよび100 μ g/mlのCaCl₂を補充したOpti-MEM I中に溶解させた0.75%のメチルセルロースをオーバーレイした。細胞を4日間インキュベートし、10%の中性緩衝ホルマリンで固定した。次に、細胞単層を、PBS-T中2%のヤギ血清を補充した2%の無脂肪乳から構成されるブロック緩衝液で1時間ブロッキングした。次に、プレートを水で3回洗浄し、200 μ lのMPV 364を、ブロッキング溶液中に1 μ g/mlの最終濃度 (1:1000希釈) になるように添加した。次いで、プレートを、水で3回洗浄し、ブロック緩衝液中に1:2000の比になるように希釈した200 μ lのヤギ抗ヒトIgG HRP二次抗体 (Southern Biotech) を添加し、室温で1時間インキュベートし、その後1時間インキュベートした。プレートを再度水で5回洗浄し、TRUEBLUE (登録商標) ペルオキシダーゼ基質 (SERACARE (登録商標)) 200 μ lを各ウェルに添加した。プレートを、ブランクが明らかに目に見えるようになるまで、20~30分間インキュベートした。ブランクを顕微鏡下で手動で計数し、ウイルスのみ対照と比較した。GraphPad Prismを使用して、非線形回帰曲線フィットおよびlog (阻害剤) -対-応答関数を使用してIC₅₀値を計算した。

20

30

【0355】

エピトープビニング：100 μ g/mlのhis-タグ化hMPV B2F (トリプシン処理していない) タンパク質を、ランニング緩衝液 (PBS、0.5%のBSA、0.05%のTween 20および0.04%のチメロサル) 中で初期ベースラインを得た後に、120秒間にわたって抗ペンターHisバイオセンサー先端 (Forte Biosciences) 上に固定化した。ベースラインを、100 μ g/mlの一次抗体を含有するウェル中に先端を300秒間浸して再度測定した。この後、100 μ g/mlの二次抗体中に、バイオセンサー先端を再度300秒間浸した。第1のmAbの後の第2のmAbの最大シグナルを比較することによって決定した第1のmAbの存在下での第2のmAbの結合を、第2のmAb単独の最大シグナルに加算した。非競合的mAbは、その結合が、70%よりも大きいまたはそれと等しい%の競合なしの結合であった、mAbで

40

50

あった。30%と60%との間を中間の結合とみなし、30%よりも低いものは、同じ部位について競合しているとみなした。

【0356】

mAbの抗体依存的食作用活性：抗体依存的食作用活性を測定するために、 2×10^9 の $1 \mu\text{m}$ Neutravidinコーティング黄色ー緑色FLUOSPHERES（登録商標）（Invitrogen番号F8776）を、0.1%のPBS 1mL中に再懸濁した。次いで、FLUOSPHERES（登録商標）を、5000rpmで15分間遠心分離し、900 μL の上清を除去し、FLUOSPHERES（登録商標）を、0.1%のPBS 900 μL で再懸濁した。このプロセスを、2回目の洗浄のために反復し、次いで、FLUOSPHERES（登録商標）を、20 μg のビオチン化hMPV B2 Fタンパク質と共に再懸濁した。次いで、FLUOSPHERES（登録商標）を、端から端まで揺らしながら、光から保護して4℃で一晩インキュベートした。次に、hMPV F特異的抗体を、U底96ウェルプレート中で、1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の最終濃度になるように、完全RPMI培地（cRPMI、RPMI+10%のFBS）中に希釈した。次いで、20 μL の抗体希釈物を、透明F底96ウェルプレートに移し、10 μL のFLUOSPHERES（登録商標）を、抗体と共に添加し、その後、オブソニン化のために37℃で2時間インキュベートした。1.5時間後、THP-1細胞を200 $\times g$ で5分間遠心分離し、PBSで1回洗浄し、次いで、 5×10^5 細胞/ mL の濃度で培養培地（RPMIおよび10%のFBS）中に再懸濁した。次いで、200 μL の細胞を各ウェルに添加し、振盪しながら6時間にわたって、5%のCO₂で37℃でインキュベートした。インキュベーションが終了したところで、プレートを次いで、2000rpmで5分間遠心分離した。次いで、100 μL を、各ウェルからピペティングして取り出し、100 μL の冷4%パラホルムアルデヒドで置き換えて、細胞を固定した。次いで、プレートを、光から保護して室温で20分間置いた。次いで、プレートを、暗中で4℃で貯蔵した。次いで、細胞を、NOVOCYTE（登録商標）QUANTEON（登録商標）フローサイトメーターで分析した。各試料中の、THP-1細胞を含有する蛍光ビーズのパーセンテージ（%ファゴサイトーシス）を使用して、mAbなし対照に対する%増加を計算した。食作用スコアを、以前に記載されたように計算した⁵⁰（幾何平均強度-mAbなし対照の幾何平均強度） $\times$ %ファゴサイトーシス。

【0357】

動物研究：BALB/cマウス（6～8週齢；The Jackson Laboratory）を、5匹の雄性および5匹の雌性を含有する各群にランダムに選択した。全てのマウスを、研究の前に事前採血して、マウスがhMPVに事前に曝露されていなかったことをELISAによって検証した。各マウスに、hMPV TN/93-32（ 5×10^5 PFU）を鼻腔内感染させ、感染の5日後に安楽死させた。マウスに、感染の24時間前（予防）または感染の3日後（処置）に、PBS/MPV467/対照抗体（10mg/kg）をi.p.注射した。終点において、血清をELISAのために収集して、mAb MPV467の存在を決定し、肺を収集し、ホモジナイズして、上記のように免疫染色を介してウイルス負荷を決定した。

【0358】

cryo-EM研究のための組換えタンパク質産生：構造研究に使用した融合前hMPV F構築物DS-Caves2-IPDS（hMPV F A1 NL/1/00、残基1～490）は、以前に記載されたG294E、A185P、L219K、V231I、E453Qおよびフューリン切断部位置換を含む（Battles et al., Nat. Commun. 8, 1528 (2017))。含まれるジスルフィド置換は、L110C/N322C、T127C/N153C、A140C/A147CおよびT365C/V463C（Hsieh et al、近刊）ならびにV84C/A249Cにおけるプロトマー間ジスルフィドである（Stewart-Jones et al., Proc. Natl. Acad. Sci. 118, e2106196118 (2021))。DS-Caves2-IPDSを、C末端「GGGS」リンカー配列とその後のT4フィブリチン（fibrin）トリマー化モチーフ「フォルドン（f

oldon)」(Efimov et al., J. Mol. Biol. 242, 470-486 (1994); Miroshnikov et al., Protein Eng. 11, 329-332 (1998)) HRV3Cプロテアーゼ部位、8×HisタグおよびStrep-TagII (Battles et al., Nat. Commun. 8, 1528 (2017))と共に、哺乳動物発現ベクターpαH中にクローニングした。ポリエチレンイミン(PEI)による、4:1の比のDS-CavEs2-IPDS:フューリン発現プラスミドでの、FreeStyle 293F細胞(ThermoFisher)の一過的共トランスフェクションを、タンパク質発現に使用した。キフネンシンおよびPluronic(登録商標) F-68 (Gibco)を、トランスフェクションの3時間後に、それぞれ5 μMおよび0.1% (v/v)の最終濃度になるように導入した。トランスフェクションの6日後、STREP-TACTIN(登録商標) Sepharose樹脂(IBA)を使用して、接線流濾過によって濾過されPBSに緩衝液交換された細胞上清から、可溶性タンパク質を精製した。100mMのTris pH8.0、150mMのNaCl、1mMのEDTAおよび2.5mMのデスチオビオチンを含む緩衝液を使用して、strep-タグ化タンパク質を溶出させた。30kDa分子量カットオフAMICON(登録商標) Ultra-15遠心分離フィルターユニット(Millipore)を使用してタンパク質を濃縮した後に、タンパク質を、2mMのTris pH8.0、200mMのNaClおよび0.02%のNaN₃のランニング緩衝液中でSUPEROSE(登録商標) 6 Increase 10/300カラム(GE Healthcare)を使用するサイズ-排除クロマトグラフィーによってさらに精製した。

10

20

30

40

50

【0359】

cryo-EM試料調製およびデータ収集: 精製されたDS-CavEs2-IPDSを、1.5倍モル過剰のMPV467 Fabと組み合わせて、室温で10分間インキュベートし、その後氷に移動させた。凍結の直前に、試料を、2mMのTris pH8.0、200mMのNaClおよび0.02%のNaN₃の緩衝液中で、0.66mg/mLのhMPV F濃度になるように希釈した。次いで、0.5%のアンフィポール(amphipol) A8-35 1 μLを、希釈された試料10 μLと組み合わせ、この試料の4 μLを、4:1の比のO₂/H₂と共にSOLARUS(登録商標) 950プラズマクリーナー(Gatan)を使用して180秒間プラズマクリーニングした金1.2/1.3 300メッシュグリッド(Protochips Au-Flat)にアプライした。グリッドを、10°Cの100%湿度チャンバーを有するVITROBOT(登録商標) Mark IV(Thermo Fisher)を使用して押し込み凍結(plunge-freeze)させた。プロットティング設定は、5秒間の待機、その後、4秒間のプロットティング、窒素冷却した液体エタン中に押し込む前に-2の力であった。Falcon 4直接電子検出器(Thermo Scientific)を備えたGLACIOS(登録商標)(Thermo Scientific)を使用して、単一のグリッドをイメージングして、合計で1,458枚の画像を収集した。データを、0.94 Å/pixの較正されたピクセルサイズに対応する150,000×の倍率および40e⁻/Å²の総露光で、30°の傾斜で収集した。データ収集統計量は、図11に列挙される。

【0360】

cryo-EMデータ処理: 顕微鏡写真を、ゲインリファレンスに関して補正し、初期データ処理: モーション補正、焦点ぼけ推定、顕微鏡写真キュレーション、粒子ピックアップおよび抽出、ならびに反復ストリーミング2Dクラス平均化を介した粒子キュレーションのためにCRYOSPARC(登録商標) Live v3.2.0中にインポートした。2D平均を使用してテンプレートを生成し、テンプレートベースの粒子ピックアップを実施した。キュレーションした粒子を、2D分類、ab initio再構築、不均一精密化、均一精密化、およびC3シンメトリーを使用する非一様均一精密化のラウンドを介したさらなる処理のためにCRYOSPARC(登録商標) v3.2にエクスポートした。マスキングおよび粒子減算を、さらなる非一様精密化のために使用した。最後に、粒子減算された非一様精密化マップを、DeepEMhancerを使用して鮮明化した(San

chez-Garcia et al., Commun. Biol. 4, 874 (2021); Cianfrocco, et al., COSMIC2: A Science Gateway for Cryo-Electron Microscopy Structure Determination. in Proceedings of the Practice and Experience in Advanced Research Computing 2017 on Sustainability, Success and Impact (Association for Computing Machinery, 2017). doi:10.1145/3093338.3093390)。EM処理ワークフローは図8に示され、EM検証結果は図9に示される。モデル構築のために、初期hMPV Fモデルを、PDB ID: 5WB0とMPV 467 Fabの結晶構造とから生成し、これらを使用して、UCSF Chimera X (Pettersen et al., Protein Sci. 30, 70-82 (2021)) を使用してcryoEMマップへとドッキングした。モデルを、Coot (Emsley et al., Acta Crystallogr. D. Biol. Crystallogr. 66, 486-501 (2010))、PHENIX (Liebschner et al., Acta Crystallogr. Sect. D, Struct. Biol. 75, 861-877 (2019)) およびISOLDE (Croll, Acta Crystallogr. Sect. D 74, 519-530 (2018)) の組合せを使用して、さらに構築し、反復して精密化した。モデル統計量は、図11に示される。

10

20

30

40

50

【0361】

(実施例8)

免疫無防備状態のコットンラット *Sigmodon hispidus* におけるヒトメタニューモウイルス (hMPV) 感染およびMPV 467 処置

コットンラット *Sigmodon hispidus* は、RSV、インフルエンザ、アデノウイルス、パラインフルエンザ、ライノウイルスおよびエンテロウイルスによって引き起こされるものが含まれる呼吸器ウイルス感染の確立されたモデルである (Blanco et al., J Antivir Antiretrovir 2014; 6:40-42; Patent et al., PLoS One 2016; 11(11):e0166336)。hMPV 感染は、ウイルス発見の直後に、コットンラット *S. hispidus* においてモデル化された (Hamelin et al., J Virol 2005; 79(14):8894-903; Williams et al., J Virol 2005; 79(17):10944-51; Wyde et al., Antiviral Res 2005; 66(1):57-66; Yim et al., Vaccine 2007; 25(27):5034-40)。シクロホスファミドによって免疫抑制されたコットンラット *S. hispidus* にhMPVを感染させ、これらの動物におけるウイルス複製および肺炎症を、正常なhMPV感染させた *S. hispidus* におけるものと比較した。抗hMPV抗体MPV 467の予防的および治療的投与の有効性もまた評価した。免疫抑制された動物は、正常動物と比較して、感染の5日後にhMPVのより高い肺および鼻力価を有し、より大きい量のhMPVが、感染の7日後および9日後に、免疫抑制された動物の気道中になおも存在し、これは、長期化したウイルス複製を示している。免疫抑制には、正常動物と比較して、hMPV感染させたコットンラットにおける低減された肺組織病理が伴ったが、病理および肺サイトカイン／ケモカイン発現における遅延した増加が、免疫抑制されたコットンラットにおいて見られた。予防的および治療的MPV 467処置は、上部および下部気道の両方を、hMPV感染に対して保護した。肺病理ならびにIP-10およびMIP-1 α mRNAの肺発現は、治療的MPV 467投与によって低減された。結果は以下に提供される。

【0362】

免疫抑制は、コットンラットにおいて、増加したhMPV複製および遅延したウイルスクリアランスを生じる：免疫抑制は、罹患個体における、より重症の疾患および呼吸器ウイルスの長期化した複製に関連し得る (Welliver, J Pediatr 2003; 143(5 Suppl):S112-7; Lion, Clin Microbiol Rev 2014; 27(3):441-62; Hijano et al., Front Microbiol 2018; 9:3097)。シクロホスファミドで免疫抑制されたコットンラットにおけるhMPVの複製およびクリアランスを評価するために、動物に、 10^5 PFUのhMPVを感染させ、ウイルス複製を、感染後のいくつかの時点で評価した。肺および鼻試料を、正常コットンラットにおけるピークウイルス複製の時点である感染の5日後、ウイルスが感染コットンラットの肺からクリアリングされる時点である

7日後、および追加の遅延した時点である9日目に、ウイルス力価測定のために収集した。比較を、免疫抑制された動物と並行して感染させ、同じ日に犠牲にした齢が一致した正常な動物に対して行った。予想されたように、正常動物では、hMPVは、感染の7日後までに、感染した正常コットラットの肺からクリアリングされ、鼻からは本質的にクリアリングされ、9日目には、下部気道または上部気道のいずれにおいても検出不能であった（図12）。対照的に、免疫抑制されたコットラットは、3つ全ての日に、肺および鼻において高レベルのhMPVを示した。感染の5日後に感染動物の肺および鼻中に存在したhMPVの量は、同時に犠牲にした正常コットラットにおいて検出されたものよりも有意に高かった。全体として、これらの結果は、hMPVが、免疫抑制されたコットラットにおいてより高い力価まで複製できること、およびウイルスのクリアランスが、免疫抑制によって有意に遅延されることを示している。

10

【0363】

抗hMPV抗体による予防的または治療的処置は、免疫抑制されたコットラットにおいて、用量依存的様式でhMPV負荷を低減させる：ウイルス表面タンパク質を標的とするモノクローナル抗体は、今日使用されているウイルス感染のための最も効率的な治療薬および予防薬である（Pantaleo et al., Nature Reviews Drug Discovery 2022; 21:676-696）。MPV467の予防有効性および治療有効性を、hMPVに感染させ、感染の5日後に犠牲にした正常なおよび免疫抑制されたコットラットにおいて評価した（図13）。感染の1日前または3日後に、3つの異なる用量のMPV467を試験した：0.1、1および10mg/kg。試験の結果は、MPV467による予防的処置および治療的処置が共に、感染動物の肺および鼻におけるhMPV複製を低減させるのに有効であったことを示した。感染の前または後のいずれかで与えた、試験したMPV467の2つの最も高い用量である10および1mg/kgは、感染動物の肺を完全に保護した（検出不能なウイルス複製）。試験したMPV467の最も低い用量である0.1mg/kgは、肺hMPV複製において控えめではあるが統計的に有意な低減を引き起こし、この効果は、予防的処置について、僅かにより顕著であった。鼻では、hMPV負荷の有意な低減が、予防的に投与した場合には、試験したMPV467の3つ全ての用量によって、治療的に与えた場合には、2つの最も高い用量によって、得られた。全体として、これらの結果は、MPV467が、免疫抑制されたコットラットにおいて強い用量依存的抗ウイルス活性を有することを示している。

20

30

【0364】

MPV467治療は、免疫抑制されたコットラットにおいて、遅延したhMPVクリアランスを軽快させる：MPV467の抗ウイルス有効性が、肺におけるウイルス複製のピーク時間において収集した試料を分析することによって、免疫抑制されたコットラットにおいて解明されたら、抗体の治療的投与がこのモデルにおける遅延したウイルスクリアランスと闘うことができたかどうかを決定した。この問題に対処するために、hMPV感染させた免疫抑制された動物を、感染の3日後および7日後に10mg/kgのMPV467で処置し、肺および鼻におけるウイルス負荷の分析のために、感染の9日後に犠牲にした。正常コットラットを感染させ、3日目に1回処置した。5日目の複製を、感染の3日後に10mg/kgのMPV467で処置した（またはモック処置した）hMPV感染させた動物（正常なおよび免疫抑制された）において再度評価した。MPV467は、正常コットラットにおいて高度に有効であり、5日目の試料においてウイルス複製を検出不能なレベルに低減させた（図14）。MPV467は、免疫抑制された動物においても、高度に有効であった。モック処置したhMPV感染させた免疫抑制された動物は、肺および鼻において、5日目および9日目に、匹敵する量の検出可能なhMPVを有したが、MPV467で処置した動物は、分析の両方の日に、上部気道または下部気道のいずれにおいても、検出可能なhMPVを有さなかった。

40

【0365】

免疫抑制されたコットラットにおける肺組織病理およびサイトカイン／ケモカイン発現に対する抗体治療の効果：コットラットモデルにおける呼吸器感染に対する炎症応答

50

のマーカーの1つである肺組織病理を使用して、抗体処置の存在下または非存在下での正常なおよび免疫抑制された動物におけるhMPVに対する肺応答における差異を評価した。コットンラットに、hMPVを感染させ、細気管支周囲炎、血管周囲炎、間質性炎症および肺炎の分析のために、感染の5日後および9日後に犠牲にした。正常なhMPV感染させた動物は、細気管支周囲炎およびいくつかの血管周囲炎によって主に特徴付けられる中程度のレベルの病理を有した(図15)。病理の程度は、5日目と9日目との間で、概して匹敵していた。抗体処置は、正常なhMPV感染させたコットンラットにおいて、血管周囲炎における中程度の増加を引き起こした。hMPVを感染させた免疫抑制されたコットンラットは、正常動物と比較して、低減された細気管支周囲炎を発症した。hMPV感染させた免疫抑制された動物における肺組織病理は、5日目と比較して、9日目に僅かに高く、間質性炎症および肺炎が明らかになった。肺病理に対する治療的抗体処置の効果を、10mg/kgの用量で投与したMPV467について評価した。感染の9日後の、hMPV感染させた抗体処置した免疫抑制された動物における肺組織病理における減少が、hMPV感染させたモック処置した免疫抑制された動物と比較して見られた。

10

20

30

40

50

【0366】

肺サイトカイン／ケモカインの発現は、コットンラットモデルにおける感染に対する肺炎炎症応答の別のマーカーである。MPV467で処置した免疫抑制されたhMPV感染させた動物において9日目に見られた間質性炎症および肺炎における減少が、変更された肺サイトカイン／ケモカイン発現に関連したかどうかを決定するために、肺MIP-1 α およびIP-10(肺傷害および免疫機能不全に関連するメディエーター)(Ichikawa et al., Am J Respir Crit Care Med 2013; 187(1):65-77; Shanley et al., J Immunol 1995; 154(9):4793-802; Kameda et al., PLoS One 2020; 15(11):e0241719; Smith et al., J Immunol 1994; 153(10):4704-12)のレベルを測定した。免疫抑制された動物は、正常動物と比較して、MIP-1 α およびIP-10 mRNAの上昇した発現を有した(図16)。免疫抑制された動物における両方のメディエーターの発現は、抗体処置によって有意に低減された。

【0367】

正常(未操作の)コットンラット*S. hispidus*は、上部および下部気道におけるhMPV感染に対して感受性であり、感染は、1週間以内に大部分は解消する^{20~21}。これは、hMPV複製が数週間~数か月間にわたって持続し得ることもある、通常のBALB/cマウスについて報告された持続性のhMPV感染とは異なる(Alvarez et al., J Virol 2004; 78:14003-14011; Alvarez et al., J Virol 2005; 79(10):5971-8; Moe et al., J Infect Dis 2017; 216(1):110-116)。未操作のコットンラットにおける自己限定的hMPV感染は、健康なヒトにおける自己限定的hMPV感染と似ており(Moe et al., J Infect Dis 2017; 216(1):110-116; Ebihara et al., J Clin Microbiol 2004; 42:126-32)、免疫抑制によって引き起こされ得る潜在的なウイルスクリアランス欠陥の評価を可能にする有益な特色であった。

【0368】

免疫無防備状態のヒトについて報告されたもの(Spahr et al., Open Forum Infect Dis 2018; 5(5):ofy077; Chu et al., J Pediatric Infect Dis Soc 2014; 3(4):286-93; Debiaggi et al., J Infect Dis 2006; 194(4):474-8; Debiaggi et al., New Microbiol 2007; 30(3):255-8)と類似して、hMPV複製は、免疫抑制されたコットンラットにおいて有意に長期化し、これにより、抑制された免疫の条件下での遅延したウイルスクリアランスが確認された。遅延したウイルスクリアランスは一般に、長期化したウイルス複製の直接的細胞変性効果によって、または肺炎に対する間接的効果によって、肺機能に影響し得る。この研究では、間質性炎症および肺炎が、肺におけるピークウイルス複製に対応する早期の時点と比較して、感染における後期に、hMPV感染させた免疫抑制されたコットンラットにおいて僅かに増加したことが留意された。同時に、感染におけるこの後期の、免疫抑制された動物にお

ける肺サイトカイン／ケモカインIP-10およびMIP-1 α の発現は、hMPVを感染させた正常コットンラットにおいて検出されたものを凌いだ。免疫抑制された動物の感染における後期の肺炎症の特定のパラメーターにおける増加は、サイトカインがRSVモデルについては測定されなかったこと、および検出可能な上皮損傷がhMPV感染させた動物の肺では見られなかったことを除き、RSVについて以前に見られたものと類似していた(Boukhvalova et al., Bone Marrow Transplant 2016; 51(1):119-26)。免疫抑制された動物におけるhMPV感染における後期のIP-10およびMIP-1 α の増加したレベルは、肺に対して有害な影響を有し得る。両方の分子が、好中球媒介性機構を介したウイルスおよび非ウイルス起源の肺傷害の発症を促進することが示され(Ichikawa et al., Am J Respir Crit Care Med 2013; 187(1):65-77; Shanley et al., J Immunol 1995; 154(9):4793-802)、両方の分子が、自己免疫および肺線維症の発症と関連付けられてきた(Kameda et al., PLoS One 2020; 15(11):e0241719; Smith et al., J Immunol 1994; 153(10):4704-12)。

10

【0369】

抗hMPV抗体MPV467の治療的投与は、免疫抑制されたコットンラットにおいてhMPV複製の消失を生じ、これはまた、免疫抑制された動物の肺における肺病理およびサイトカイン／ケモカイン発現を低減させた。治療的に投与した抗ウイルス抗体による、ウイルス複製および肺炎症のこの組み合わせられた抑制は、抗RSV Igで処置したRSV感染させた免疫抑制されたコットンラットにおいて見られた効果と類似している(Boukhvalova et al., Bone Marrow Transplant 2016; 51(1):119-26)。RSVについて、免疫抑制された動物において肺炎症を低減させる治療的抗体処置の能力は、正常な免疫抑制されていないコットンラット(Prince et al., J Infect Dis 2000; 182:1326-1330; Boukhvalova et al., J Infect Dis 2007; 195(4):511-8)またはヒト(Rodriguez et al., Pediatrics 1997; 100(6):937-42; Rodriguez et al., Pediatrics 1997; 99(3):454-61)において単独で使用した場合の抗ウイルス抗体の同様の有効性の欠如とは対比をなした。

20

【0370】

(実施例9)

実施例8についての材料および方法

30

試薬：注射用シクロホスファミド(20mg/ml USP、Baxter)は、Blue Door Pharmaから得た。

【0371】

ウイルスおよびウイルスアッセイ：Vanderbilt Vaccine Clinicにおいて収集された検体から回収されたhMPV株TN/94-49/A2(Williams et al., N Engl J Med 2004; 350(5):443-50; Williams et al., J Infect Dis 2006; 193(3):387-95)を、0.2%のグルコース、0.1%のウシ血清アルブミン、0.0002%のトリプシンおよび1%のゲンタマイシンを補充した最小必須培地中で、LLC-MK2細胞上で成長させた。hMPVの単一のプール(3×10^6 pfu/ml)を、本明細書に記載される研究に使用した。

40

【0372】

動物および動物研究：近交系S. hispidusコットンラットは、Sigmovir Biosystems, Inc.において維持されたコロニーから得た。6~8週齢の雄性および雌性コットンラットを、研究に使用した。動物を、大きいポリカーボネートケージ中に収容し、げっ歯類食および水の標準的な食餌を給餌した。コロニーを、偶発的な呼吸器ウイルスおよび他の一般的なげっ歯類病原体に対する抗体についてモニタリングしたところ、かかる抗体は見出されなかった(VRL Test 80221-RAT 1 Abプロファイル：Carbacillus CARB、Toolan's H-1ウイルス、キルハムラットウイルスKRV、Mycoplasma pulmonis、パルボウイルス属、肺炎ウイルスPVM、RCV/SDA、センダイウイルス)。免疫無防

50

備状態の動物におけるhMPV感染、およびMPV467処置の有効性を、2つの連続する実験において検証した。1群当たり4～5匹の動物の標本サイズを、以前の実験の結果に基づいて選択し、群間での統計的に有意な差異の検出を可能にした。群間での比較を、不等分散を有する対応のないデータについてのスチューデントt検定(Kaleidagraph)を使用して実施した。示されない限り、試料を、分析前に盲検にした。

【0373】

免疫抑制を、以前に開示された方法(Boukhvalova et al., Bone Marrow Transplant 2016; 51(1):119-26)に基づいて、シクロホスファミド(CY)での反復処置によって、コットンラットにおいて誘導した。簡潔に述べると、50mg/kgのCY溶液を、月曜-水曜-金曜スケジュールで、18日間にわたって250μl/100g動物として筋肉内(i.m.)投与した。この期間の最後に、全血を収集して、総白血球(white blood cell)および白血球(lymphocyte)計数における減少を検証した。CY処置を、研究の最後まで継続した。CY処置の開始の21日後、動物に、hMPV(動物1匹当たり10⁵PFU)を鼻腔内(i.n.)感染させた。hMPV負荷を定量化するために、5匹の動物の群を、プラークアッセイによるウイルス定量化のための肺および鼻の収集のために、感染の5日後および7日後(第1の研究)または感染の5日後および9日後(第2の研究)に犠牲にした。年齢が一致した正常なコットンラットの群に、hMPVを感染させ、プラークアッセイによるhMPVの定量化のために、感染の5日後、7日後および9日後に犠牲にした。

【0374】

MPV467の予防有効性および治療有効性の用量依存性の評価のために、シクロホスファミドで免疫抑制されたコットンラットに、0.1、1または10mg/kgのMPV467を、hMPVチャレンジの1日前または3日後にi.m.接種した。対照動物は、hMPV感染の1日前に、PBS(モック)で処置した。動物を、hMPVチャレンジの5日後に犠牲にし、肺および鼻を、ウイルス力価測定のために収集した。遅延したクリアランスの時点(9日目)におけるMPV467の治療有効性の分析のために、免疫抑制された動物に、hMPVを感染させ、感染の3日後に10mg/kgのMPV467でi.m.処置し、感染の5日後に犠牲にしたか、または感染の3日後および7日後にMPV467で処置し、感染の9日後に犠牲にした。正常動物を、感染の3日後にMPV467で処置し、9日目に犠牲にした。肺を、組織病理およびqPCR分析のために収集した。肺および鼻を、ウイルス力価測定のために収集した。

【0375】

ウイルス力価測定：肺および鼻ホモジネートを、遠心分離によって清澄化し、EMEM中で希釈した。コンフルエントなLLC-MK-2単層に、24ウェルプレート中で、希釈されたホモジネートを2連で感染させた。5%CO₂インキュベーター中で37℃での1時間のインキュベーション後、ウェルに、0.75%のメチルセルロース培地をオーバーレイした。7日間のインキュベーション後、オーバーレイを除去し、細胞を1時間固定し、免疫染色のために風乾した。PBS中1%のBSAでウェルをブロッキングする際に、1%のBSA中1:1,000希釈のマウス抗hMPV-Nタンパク質抗体を、各ウェルに添加し、その後洗浄し、次いで、1%のBSA中に1:1,000希釈したHRPコンジュゲートウサギ抗マウスIgGと共にインキュベートした。AEC色素原検出溶液を各ウェルに添加し、室温で2時間インキュベートした。目に見えるプラークを計数し、ウイルス力価を、組織1グラム当たりのプラーク形成単位として表現した。ウイルス力価を、所与の時点において、群中の全ての動物について幾何平均±標準誤差(S.E.M.)として計算した。

【0376】

肺サイトカイン分析：総RNAを、RNeasy精製キット(QIAGEN)を使用して、ホモジナイズした肺組織から抽出した。1マイクログラムの総RNAを使用して、オリゴdTプライマーおよびSuper Script II RT(Invitrogen)を使用してcDNAを調製した。コットンラットサイトカインcDNAを、以前に記

載されたプライマーおよび条件を使用する q P C R によって分析した (Blanco et al., J Infect Dis 2002; 185:1780-5; Blanco et al., J Interferon Cytokine Res 2004; 24:21-8; Baukhvalova et al., Curr Protoc Cell Biol 2010; Chapter 26:Unit26.6)。各分析した遺伝子について得られたシグナルを、対応する臓器において発現された β -アクトン (「ハウスキーピング遺伝子」) のレベルに対して正規化した。サイトカインレベルを、所与の時点において、群中の全ての動物について幾何平均 $\pm$ S. E. M. として表現した。群間の差異を、要約データのスチューデント t 検定によって評価した。

【0377】

組織病理学分析：肺を、以前に記載されたように組織病理分析のために調製し、細気管支周囲炎 (小気道周囲の炎症性細胞)、血管周囲炎 (小血管周囲の炎症性細胞)、肺肺炎 (肺胞空間内の炎症性細胞) および間質性肺肺炎 (炎症性細胞浸潤および肺胞壁の肥厚) について盲検でスコアリングした (Prince et al., J Gen Virol 2001; 82:2881-8)。各パラメーターを、0~4のスケールでスコアリングし、0 = 0%、1 = 5%、2 = 25%、3 = 75% および 4 = 100% の組織学的スコアであった。

【図面】

【図1A】

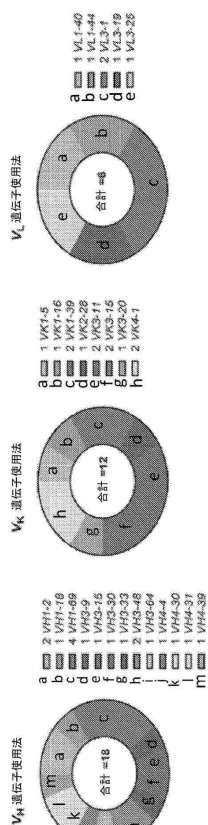


FIG. 1A

【図1B-C】

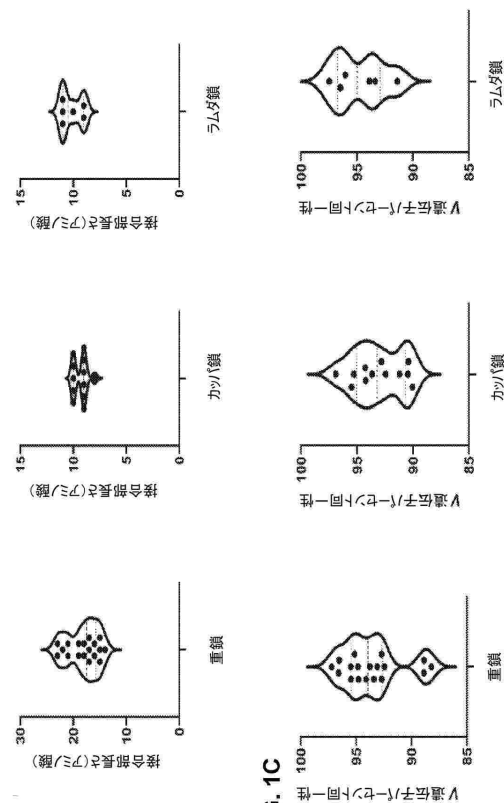


FIG. 1B

FIG. 1C

10

20

30

40

50

【図 2】

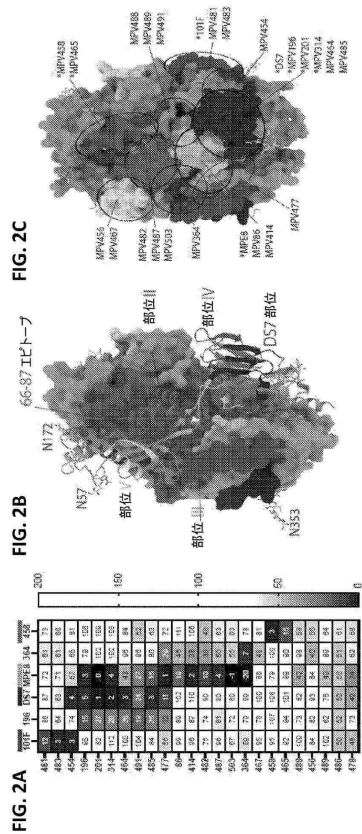


FIG. 2A

FIG. 2B

FIG. 2C

【図 3】

FIG. 3A

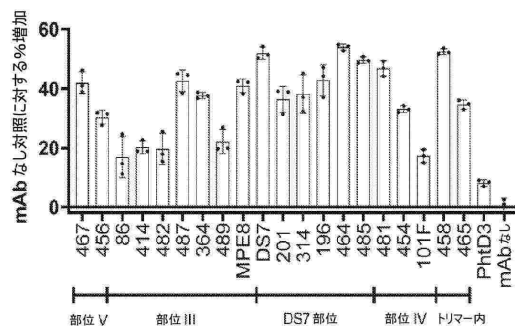
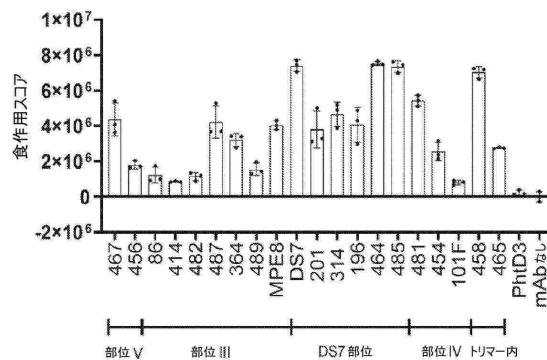


FIG. 3B



【図 4】

FIG. 4A



FIG. 4B

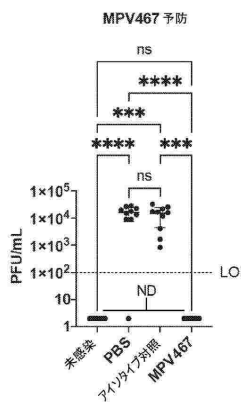
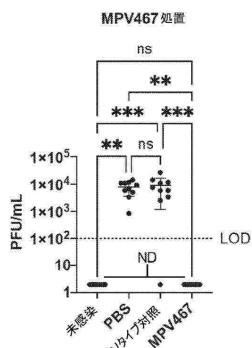


FIG. 4C



【図 5】

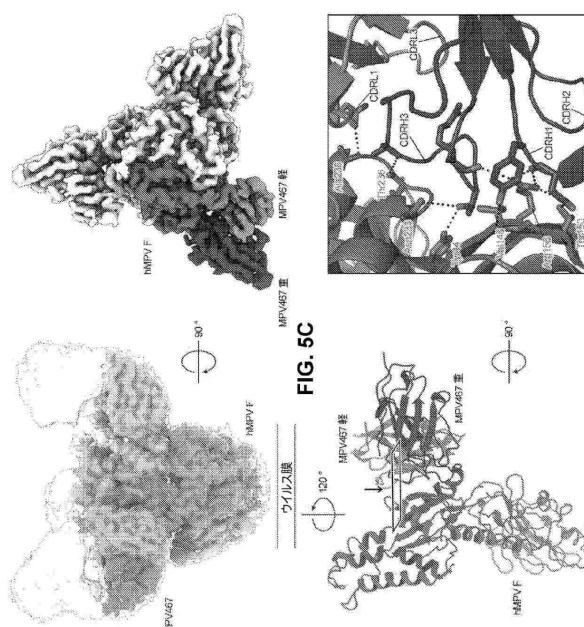
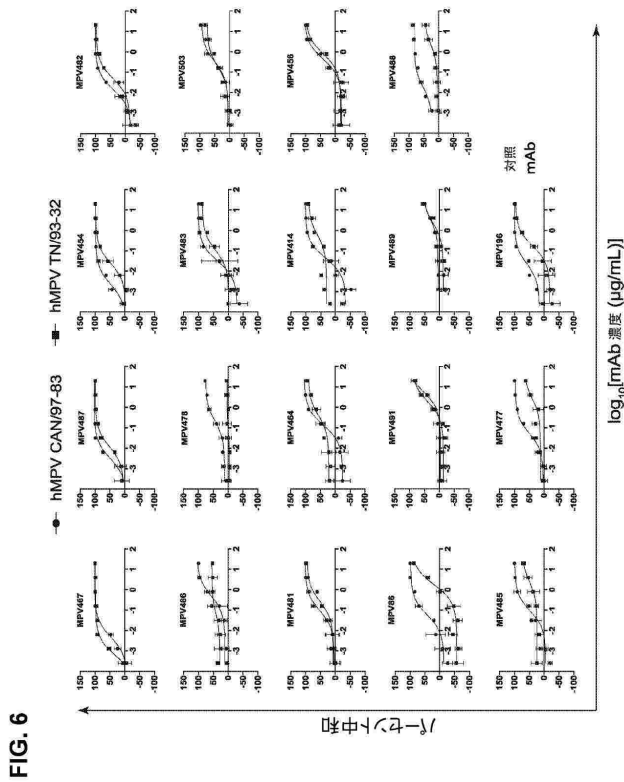


FIG. 5A

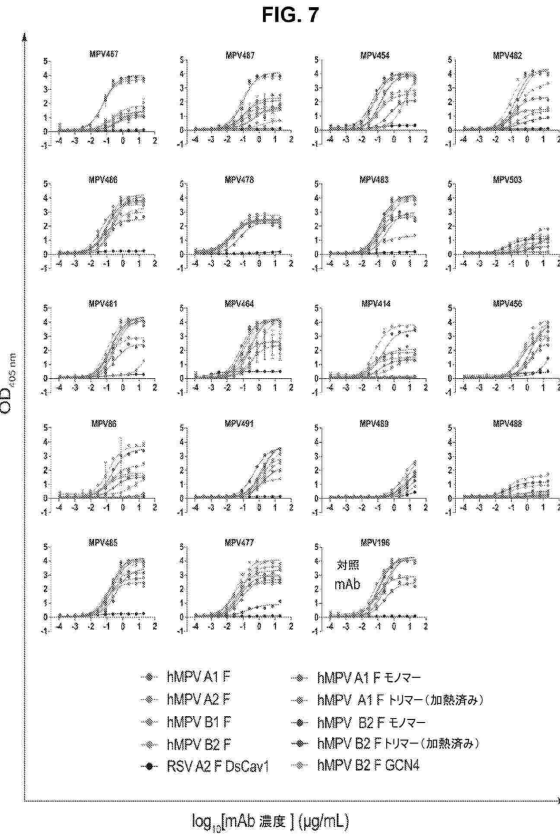
FIG. 5B

FIC 5C

【図 6】



【図 7】

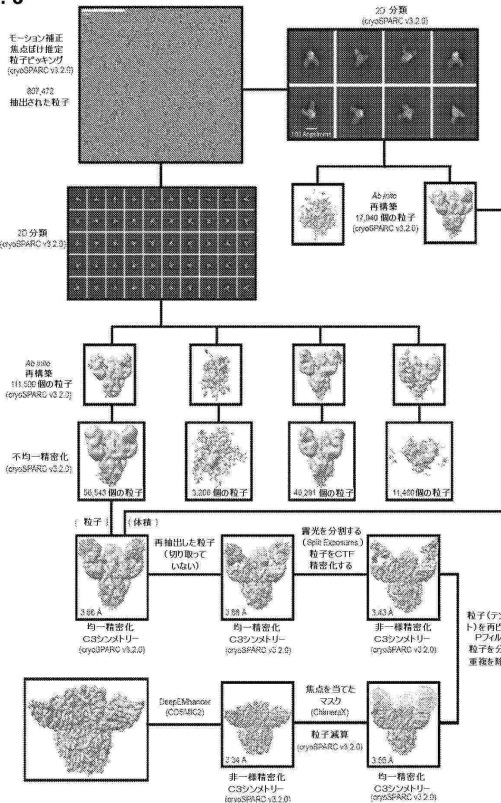


10

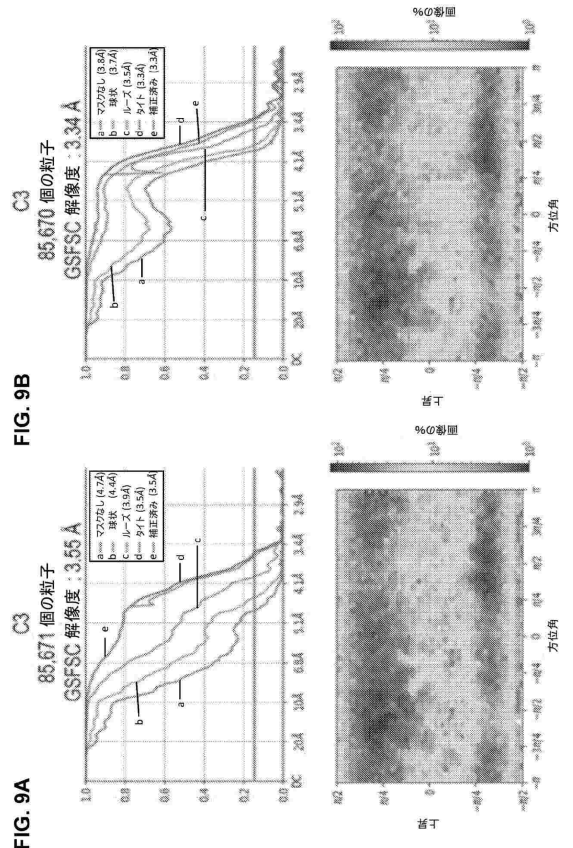
20

【図 8】

FIG. 8



【図 9 A - B】

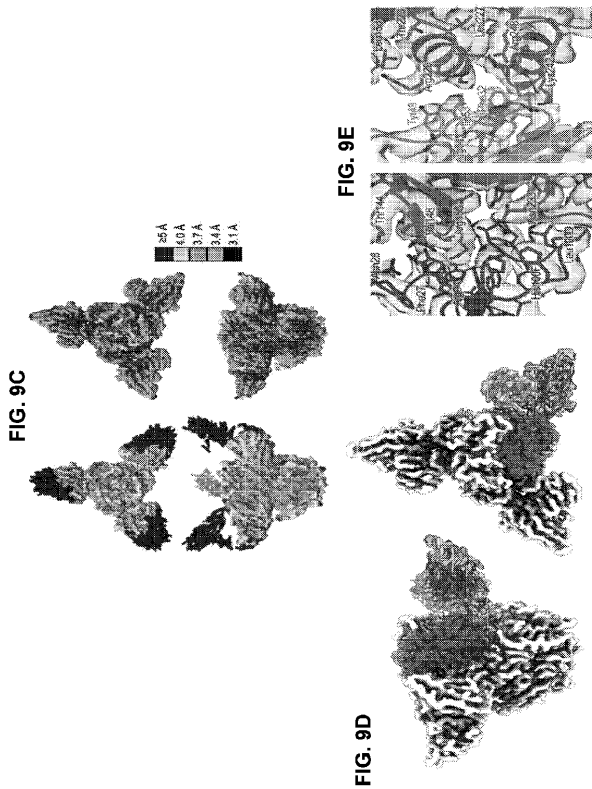


30

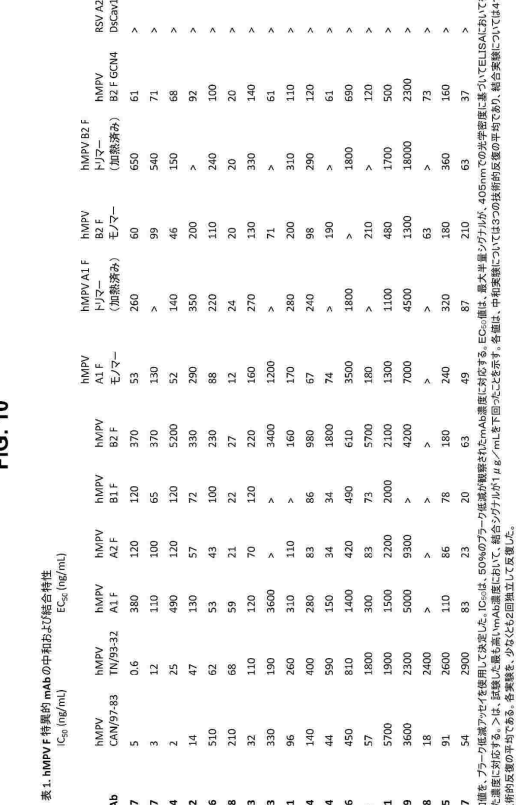
40

50

【図 9 C - E】



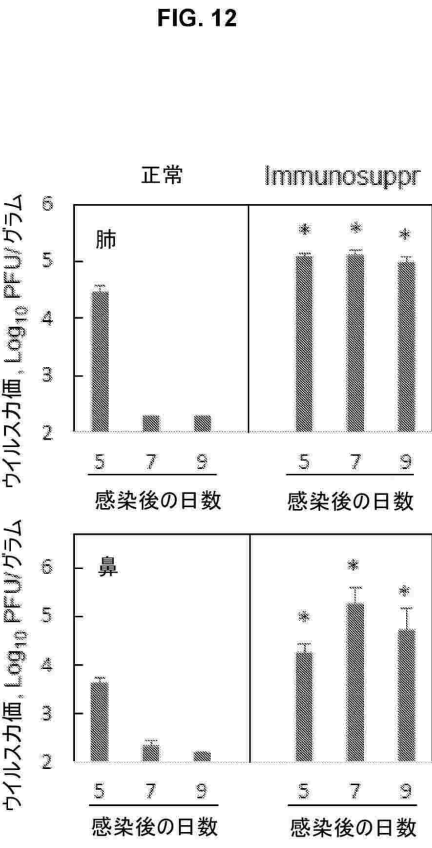
【図 10】



【図 11】



【図 12】



10

20

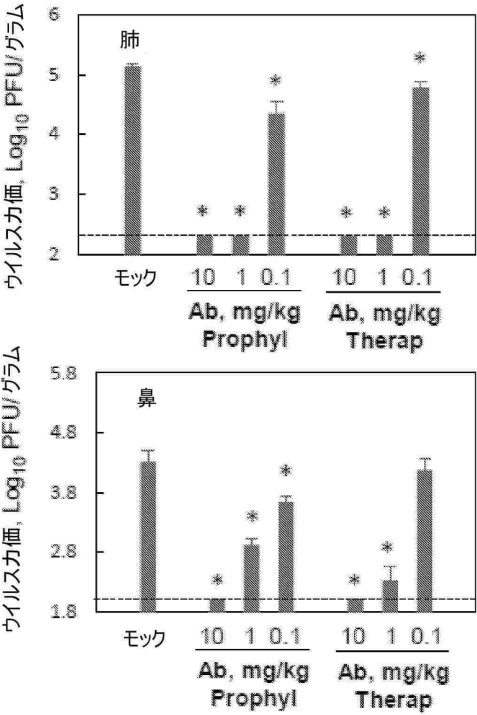
30

40

50

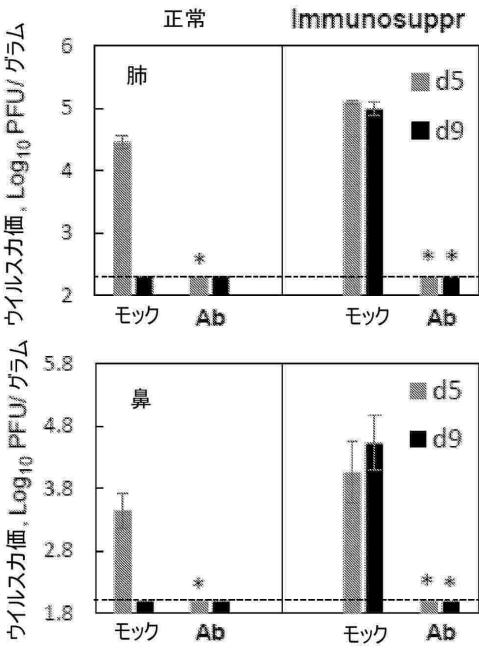
【 図 1 3 】

FIG. 13

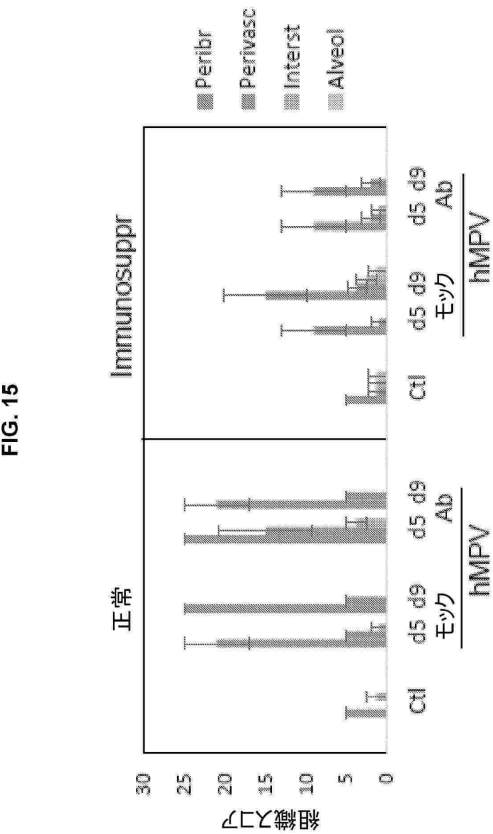


【 図 1 4 】

FIG. 14



【 図 1 5 】



【 図 1 6 】

FIG. 16

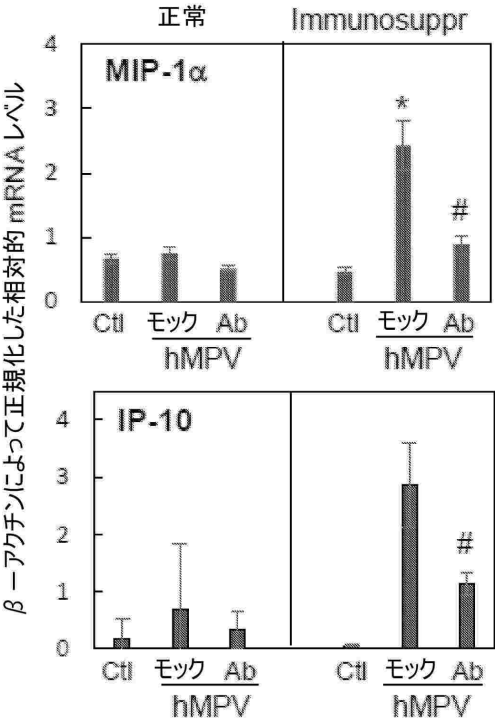


FIG. 15

β-アクトチンによって正規化した相対的 mRNA レベル

10

20

30

40

50

【配列表】
2025509285000001.xml

10

20

30

40

50

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/US2023/063801
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER C07K 16/10 (2006.01) A61K 39/00 (2006.01) A61K 39/42 (2006.01) A61P 31/14 (2006.01) G01N 33/569 (2006.01)		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) MEDLINE, CAPLUS, BIOSIS, EMBASE, REGISTRY (J MOUSA, J HUANG, A BANERJEE, MPV467, MPV454, MPV477, MPV486, MPV464, SEQ ID NO's: 18-20, 22-24, 34-36, 38-40, 42-44, 46-48, 50-52, 54-56, 98-100, 102-104) Internal IP Australia databases (J MOUSA, J HUANG, A BANERJEE) GENOMEQUEST (SEQ ID NO's: 18-20, 22-24, 34-36, 38-40, 42-44, 46-48, 50-52, 54-56, 98-100, 102-104)		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
	Documents are listed in the continuation of Box C	
☒ Further documents are listed in the continuation of Box C ☒ See patent family annex		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "D" document cited by the applicant in the international application earlier application or patent but published on or after the international filing date "E" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "L" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "O" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 15 May 2023		Date of mailing of the international search report 15 May 2023
Name and mailing address of the ISA/AU AUSTRALIAN PATENT OFFICE PO BOX 200, WODEN ACT 2606, AUSTRALIA Email address: pct@ipaaustralia.gov.au		Authorised officer Neal Dalton AUSTRALIAN PATENT OFFICE (ISO 9001 Quality Certified Service) Telephone No. +61 2 6285 0740

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No.
C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		PCT/US2023/063801
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2020/236974 A1 (UNIVERSITY OF GEORGIA RESEARCH FOUNDATION, INC.) 26 November 2020 see Abstract, page 19 lines 10-27, page 26 lines 19-32, page 37 line 25, page 44 lines 16-27, page 84 line 27 to page 86 line, Example 2-6, Table S2, claims 1-28	1-27
X	Williams, J. V. <i>et al.</i> "A recombinant human monoclonal antibody to human metapneumovirus fusion protein that neutralizes virus <i>in vitro</i> and is effective therapeutically <i>in vivo</i> ". J Virol. 2007 Aug;81(15):8315-24. doi: 10.1128/JVI.00106-07. Epub 2007 May 23. PMID: 17522220; PMCID: PMC1951312. see Title, page 8318 LHS para. 1, Table 1	1-27
X	Huang, J. <i>et al.</i> "Antibody recognition of the Pneumovirus fusion protein trimer interface". PLoS Pathog. 2020 Oct 9;16(10):e1008942. doi: 10.1371/journal.ppat.1008942. PMID: 33035266; PMCID: PMC7598476. See Title, abstract, results, discussion	1-27
X	Bar-Peled, Y. <i>et al.</i> "A Potent Neutralizing Site III-Specific Human Antibody Neutralizes Human Metapneumovirus <i>In Vivo</i> ". J Virol. 2019 Sep 12;93(19):e00342-19. doi: 10.1128/JVI.00342-19. PMID: 31292250; PMCID: PMC6744252. see whole document	1-27
Form PCT/ISA/210 (fifth sheet) (July 2019)		

10

20

30

40

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US2023/063801

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

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

- a. ☒ forming part of the international application as filed.
- b. ☐ furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search (Rule 13^{ter}.1(a)).
- ☐ accompanied by a statement to the effect that the sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed.

2. ☐ With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, this report has been established to the extent that a meaningful search could be carried out without a WIPO Standard ST.26 compliant sequence listing.

3. Additional comments:

SEQ ID NO's: 18-20, 22-24, 34-36, 38-40, 42-44, 46-48, 50-52, 54-56, 98-100, 102-104 were searched.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2023/063801

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

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

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
the subject matter listed in Rule 39 on which, under Article 17(2)(a)(i), an international search is not required to be carried out, including
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a)

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

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

See Supplemental Box for Details

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☒ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:
1-27

Remark on Protest

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

INTERNATIONAL SEARCH REPORT	International application No. PCT/US2023/063801
Supplemental Box	
Continuation of: Box III This International Application does not comply with the requirements of unity of invention because it does not relate to one invention or to a group of inventions so linked as to form a single general inventive concept. This Authority has found that there are different inventions based on the following features that separate the claims into distinct groups: • Claims 1-27 (in part, as defined by MPV467, MPV454, MPV477, MPV486, and MPV464) are directed to antibodies and antigen binding fragments thereof that specifically bind the human metapneumovirus F protein. The feature of the antibodies binding to both pre-fusion and post-fusion F- constructs but having higher binding affinity for pre-fusion proteins is specific to this group of claims. • Claims 1-27 (in part, as defined by MPV487, MPV482, MPV503, MPV414, MPV86, and MPV488) are directed to antibodies and antigen binding fragments thereof that specifically bind the human metapneumovirus F protein. The feature of the antibodies having limited binding to post-fusion F constructs and favoured binding to pre-fusion constructs is specific to this group of claims. • Claims 1-27 (in part, as defined by MPV478, MPV483, MPV481, MPV456, MPV491, MPV489, and MPV485) are directed to antibodies and antigen binding fragments thereof that specifically bind the human metapneumovirus F protein. The feature of the antibodies binding equally to pre-fusion and post-fusion F-constructs is specific to this group of claims. PCT Rule 13.2, first sentence, states that unity of invention is only fulfilled when there is a technical relationship among the claimed inventions involving one or more of the same or corresponding special technical features. PCT Rule 13.2, second sentence, defines a special technical feature as a feature which makes a contribution over the prior art. When there is no special technical feature common to all the claimed inventions there is no unity of invention. In the above groups of claims, the identified features may have the potential to make a contribution over the prior art but are not common to all the claimed inventions and therefore cannot provide the required technical relationship. The only feature common to all of the claimed inventions is antibodies and antigen binding fragments thereof that specifically bind the human metapneumovirus F protein. However it is considered that this feature is generic in this particular art, as outlined on page 7 lines 23-30 and example 3 of the present application. Therefore this common feature cannot be a special technical feature. Hence there is no special technical feature common to all the claimed inventions and the requirements for unity of invention are consequently not satisfied <i>a priori</i>. Because no additional search fees were paid, the International Search Report (and the Written Opinion of the International Searching Authority) was restricted to the invention first defined in claims 1-27 (as outlined above). Characterised by the antibodies	
Form PCT/ISA/210 (Supplemental Box) (July 2019)	

10

20

30

40

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT	International application No. PCT/US2023/063801
Supplemental Box	
MPV467, MPV454, MPV477, MPV486, and MPV464, comprising the VH and VL CDR sequences of SEQ ID NO's: 42-44 and 46-48; 18-20 and 22-24; 34-36 and 38-4; 50-52 and 54-56, or, 98-100 and 102-104, respectively. Form PCT/ISA/210 (Supplemental Box) (July 2019)	

10

20

30

40

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No.	
Information on patent family members		PCT/US2023/063801	
This Annex lists known patent family members relating to the patent documents cited in the above-mentioned international search report. The Australian Patent Office is in no way liable for these particulars which are merely given for the purpose of information.			
Patent Document/s Cited in Search Report		Patent Family Member/s	
Publication Number	Publication Date	Publication Number	Publication Date
WO 2020/236974 A1	26 November 2020	None	
End of Annex			
Due to data integration issues this family listing may not include 10 digit Australian applications filed since May 2001. Form PCT/ISA/210 (Family Annex)(July 2019)			

10

20

30

40

50

フロントページの続き

(51)国際特許分類

F I

テーマコード (参考)

4 H 0 4 5

C 1 2 N 1/19 (2006.01)
C 1 2 N 1/21 (2006.01)
C 1 2 N 5/10 (2006.01)
C 1 2 P 21/02 (2006.01)
C 1 2 P 21/08 (2006.01)
A 6 1 K 39/395 (2006.01)
A 6 1 K 48/00 (2006.01)
A 6 1 P 31/14 (2006.01)
A 6 1 K 35/76 (2015.01)
G 0 1 N 33/577 (2006.01)
G 0 1 N 33/569 (2006.01)
G 0 1 N 33/53 (2006.01)

C 1 2 N 1/19
C 1 2 N 1/21
C 1 2 N 5/10
C 1 2 P 21/02 C
C 1 2 P 21/08
A 6 1 K 39/395 S
A 6 1 K 39/395 N
A 6 1 K 48/00
A 6 1 P 31/14
A 6 1 K 35/76
G 0 1 N 33/577 B
G 0 1 N 33/569 L
G 0 1 N 33/53 D

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

(74)代理人 230113332

弁護士 山本 健策

(72)発明者 ムーサ, ジャロッド

アメリカ合衆国 ジョージア 3 0 6 0 2, アセンズ, ディー. ダブリュー. ブルックス ドラ
 イブ 5 0 1, ルーム 1 5 1 3

(72)発明者 ファン, ジアチェン

アメリカ合衆国 ジョージア 3 0 6 0 2, アセンズ, ディー. ダブリュー. ブルックス ドラ
 イブ 5 0 1, ルーム 1 5 1 3

(72)発明者 バネルジー, アヴィク

アメリカ合衆国 ジョージア 3 0 6 0 2, アセンズ, ディー. ダブリュー. ブルックス ドラ
 イブ 5 0 1, ルーム 1 5 1 3

F ターム (参考) 4B064 AG27 CA10 CA19 CC24 DA01 DA13

4B065 AB01 AC14 BA02 CA25 CA44 CA46

4C084 AA13 NA14 ZB33

4C085 AA14 BB11 BB41 BB43 EE01

4C087 AA01 AA02 BB65 BC83 CA12 NA14 ZB33

4H045 AA11 AA20 AA30 BA10 BA41 BA50 CA40 DA76 EA50 FA74