(19)日本国特許庁(JP)　(12)公表特許公報(A)　(11)特許出願公表番号
特表2021-520854
(P2021-520854A)
(43)公表日　令和3年8月26日(2021.8.26)

(51)Int.Cl.		F I			テーマコード（参考）
C12N 15/13	(2006.01)	C12N	15/13		4B064
C07K 16/10	(2006.01)	C07K	16/10	ZNA	4B065
C07K 16/46	(2006.01)	C07K	16/46		4C085
C12N 15/63	(2006.01)	C12N	15/63	Z	4H045
C12N 1/15	(2006.01)	C12N	1/15		

審査請求 未請求　予備審査請求 未請求　（全 27 頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2021-505623 (P2021-505623)
(86)(22)出願日　平成31年4月11日 (2019.4.11)
(85)翻訳文提出日　令和2年12月9日 (2020.12.9)
(86)国際出願番号　PCT/US2019/027074
(87)国際公開番号　WO2019/200160
(87)国際公開日　令和1年10月17日 (2019.10.17)
(31)優先権主張番号　62/656,352
(32)優先日　平成30年4月11日 (2018.4.11)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国 (US)

(71)出願人　520395639
タイチャン　ピーティーイー．リミテッド
ＴＹＣＨＡＮ　ＰＴＥ．ＬＴＤ．
シンガポール共和国　シンガポール　０６８８９８、ロビンソン　ロード　８０、＃１７－０２
８０　Ｒｏｂｉｎｓｏｎ　Ｒｏａｄ，＃１７－０２，Ｓｉｎｇａｐｏｒｅ　０６８８９８　Ｓｉｎｇａｐｏｒｅ
(74)代理人　100102842
弁理士　葛和　清司

最終頁に続く

(54)【発明の名称】黄熱を処置するための方法および組成物

(57)【要約】
本開示は、少なくとも一部において、ＹＦＶに特異的に結合するおよび／または該ウイルスを中和する抗体の発見に基づく。かかる抗体またはその抗原結合部分に関連する組成物および方法が提供される。

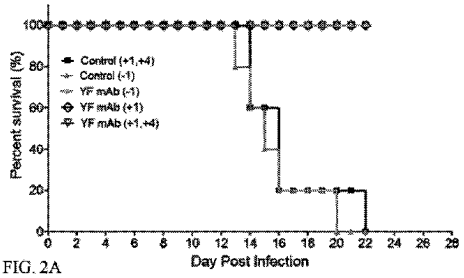

FIG. 2A

【特許請求の範囲】
【請求項１】
抗体またはその抗原結合部分であって、前記抗体またはその抗原結合部分が、黄熱ウイルスのＥ－ＤＩＩエピトープに特異的に結合し、ならびに、Ｅ－ＤＩＩエピトープが、黄熱ウイルスＥタンパク質の位置１０６におけるアスパラギン、位置９３におけるリジンおよび位置１０４におけるリジンを含む、前記抗体またはその抗原結合部分。
【請求項２】
抗体またはその抗原結合部分が、重鎖可変領域（ＶＨ）の３つのＣＤＲを含み、ＶＨが、配列番号１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、および３６からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む、請求項１に記載の抗体またはその抗原結合部分。
【請求項３】
抗体またはその抗原結合部分が、軽鎖可変領域（ＶＬ）の３つのＣＤＲを含み、ＶＬが、配列番号３７、３８、３９、４０、４１、４２、４３、４４、４５、４６、４７、４８、４９、５０、５１、５２、５３、５４、５５、５６、５７、５８、５９、６０、６１、６２、６３、６４、６５、６６、６７、６８、６９、７０、７１、７２、および７３からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む、請求項１または２に記載の抗体またはその抗原結合部分。
【請求項４】
抗体またはその抗原結合部分が、ＶＨを含み、ＶＨが、配列番号１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、および３６からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む、請求項１～３のいずれか一項に記載の抗体またはその抗原結合部分。
【請求項５】
抗体またはその抗原結合部分が、ＶＬを含み、ＶＬが、配列番号３７、３８、３９、４０、４１、４２、４３、４４、４５、４６、４７、４８、４９、５０、５１、５２、５３、５４、５５、５６、５７、５８、５９、６０、６１、６２、６３、６４、６５、６６、６７、６８、６９、７０、７１、７２、および７３からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む、請求項１～４のいずれか一項に記載の抗体またはその抗原結合部分。
【請求項６】
抗体またはその抗原結合部分が、ヒト抗体またはその抗原結合部分、モノクローナル抗体またはその抗原結合部分、キメラ抗体またはその抗原結合部分、あるいはヒト化抗体またはその抗原結合部分である、請求項１～５のいずれか一項に記載の抗体またはその抗原結合部分。
【請求項７】
抗体またはその抗原結合部分が、一本鎖抗体またはその抗原結合部分、Ｆ（ａｂ’）２フラグメント、ｄＡｂフラグメント、Ｆａｂフラグメント、あるいはＦｖフラグメントである、請求項１～６のいずれか一項に記載の抗体またはその抗原結合部分。
【請求項８】
抗体またはその抗原結合部分が、単離された抗体またはその抗原結合部分である、請求項１～７のいずれか一項に記載の抗体またはその抗原結合部分。
【請求項９】
請求項１～８のいずれか一項に記載の抗体またはその抗原結合部分および担体を含む、組成物。
【請求項１０】
組成物が、薬学的に許容し得る担体を含む医薬組成物である、請求項９に記載の組成物。
【請求項１１】

抗体またはその抗原結合部分が、請求項１～８のいずれか一項に記載のものである、医薬における使用のための抗体またはその抗原結合部分。
【請求項１２】
黄熱、または黄熱ウイルスに関連する疾患もしくは症状を処置するための方法であって、その必要がある対象に治療的に有効な量の請求項１～８のいずれか一項に記載の抗体またはその抗原結合部分を投与することを含む、前記方法。
【請求項１３】
黄熱ウイルスに関連する疾患または症状を処置するための医薬の製造における、請求項１～８のいずれか一項に記載の抗体またはその抗原結合部分の使用。
【請求項１４】
抗体重鎖可変領域（ＶＨ）、抗体軽鎖可変領域（ＶＬ）またはその両方をコードするヌクレオチド配列を含む核酸であって、ＶＨおよびＶＬが、請求項２～７のいずれか一項に記載のものである、前記核酸。
【請求項１５】
請求項１４に記載の核酸を含む、ベクター。
【請求項１６】
ベクターが発現ベクターである、請求項１５に記載のベクター。
【請求項１７】
請求項１４に記載の核酸あるいは請求項１５または１６に記載のベクターを含む、宿主細胞。
【請求項１８】
黄熱ウイルスＥタンパク質に結合する抗体またはその抗原結合部分を産生するための方法であって：
抗体の発現を可能にする条件下で請求項１７に記載の宿主細胞を培養することを含む、前記方法。
【請求項１９】
抗体またはその抗原結合部分を回収することをさらに含む、請求項１８に記載の方法。
【請求項２０】
抗体またはその抗原結合部分が、黄熱ウイルスＥタンパク質のＥ－ＤＩＩエピトープに特異的に結合する、請求項１８または１９に記載の方法。
【請求項２１】
Ｅ－ＤＩＩエピトープが、黄熱ウイルスＥタンパク質の残基９３、１０４、および１０６を含む、請求項２０に記載の方法。
【発明の詳細な説明】
【背景技術】
【０００１】
関連出願
本出願は、２０１８年４月１１日に出願された米国仮出願番号６２／６５６，３５２の米国特許法１１９条の下における優先権の利益を主張し、その内容の全体が参照により本明細書に組み込まれる。
【０００２】
背景
黄熱は、黄熱ウイルス（ＹＦＶ）により引き起こされる急性のウイルス性出血性疾患である。ヒトでは、ＹＦＶ伝染の主な媒介者（vector）は、蚊であるネッタイシマカ（Aedes aegypti）であり、これはデングおよびジカウイルスを含むいくつかの他のウイルスを伝染させる。ＹＦＶは、アフリカおよび中南米の熱帯および亜熱帯地域の風土病である。感染者は、無症状感染から、５０％の致死率がある急性のウイルス性出血性疾患（１０～１５％）まで、幅広い兆候を呈する。１９３０年代以降は、弱毒生ワクチンが市場に出回ってきた。しかしながら、世界的な供給不足によって、ＹＦＶの発生を抑制および制御するための努力は妨げられてきた。この直近の兆候はブラジルで見られ、２０１７年に発生

が始まって以来、ＹＦＶは、すでに７００人超に感染し、２００を超える人命を奪ってきた。現在のところ、ワクチンを接種していない人またはワクチンが保護作用をもたらしていない人を処置するために利用できるＹＦＶ療法は存在しない。ＹＦＶ療法に対する必要性が存在する。

【発明の概要】

【０００３】

本開示は、少なくとも一部において、ＹＦＶに特異的に結合するおよび／または該ウイルスを中和する抗体の発見に基づく。かかる抗体またはその抗原結合部分に関連する組成物および方法が提供される。例えば、抗体またはその抗原結合部分は、いくつかの態様において、ＹＦＶが細胞に感染するのを抑制することができる。ある態様においては、本明細書において提供される組成物または方法のいずれか１つにおける、抗体またはその抗原結合部分は、Ｅタンパク質において最も溶媒に曝されかつ抗体にアクセス可能な、キーエピトープ（key epitope）残基（Ｎ１０６、Ｋ９３およびＫ１０４）を占有するように特異的に結合する。ある態様においては、本明細書において提供される組成物または方法のいずれか１つにおける、抗体またはその抗原結合部分は、これらのキーエピトープ残基の周囲にエネルギー的に有利なパラトープ（paratope）（ＣＤＲ）相互作用を有し、および／または閾値最小結合エネルギーによって特徴付けられる。

【０００４】

したがって、本開示の１つの側面は、黄熱ウイルスのＥタンパク質またはエンベロープタンパク質ドメインＩＩ（Ｅ－ＤＩＩ）エピトープに特異的に結合する抗体またはその抗原結合部分を提供する。本明細書において提供される組成物または方法のいずれか１つのある態様において、ＥタンパクまたはＥ－ＤＩＩエピトープは、黄熱ウイルスＥタンパク質の位置１０６におけるアスパラギン、位置９３におけるリジン、および位置１０４におけるリジンを含む。

【０００５】

提供される方法または組成物のいずれか１つのある態様において、抗体またはその抗原結合部分は、重鎖可変領域（ＶＨ）の３つのＣＤＲを含む。提供される方法または組成物のいずれか１つのある態様において、３つのＣＤＲは、表１において等、本明細書において記載されているＶＨ配列（例えば、配列番号１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、および３６）のいずれか1つに見出されるものである。提供される方法または組成物のいずれか１つのある態様において、抗体またはその抗原結合部分は、軽鎖可変領域（ＶＬ）の３つのＣＤＲを含む。提供される方法または組成物のいずれか１つのある態様において、３つのＣＤＲは、表２において等、本明細書において記載されているＶＬ配列（配列番号３７、３８、３９、４０、４１、４２、４３、４４、４５、４６、４７、４８、４９、５０、５１、５２、５３、５４、５５、５６、５７、５８、５９、６０、６１、６２、６３、６４、６５、６６、６７、６８、６９、７０、７１、７２、および７３）のいずれか1つに見出されるものである。提供される方法または組成物のいずれか１つのある態様において、抗体またはその抗原結合部分は、表１において等、本明細書において記載されているＶＨ配列のいずれか1つである３つのＣＤＲ（例えば、配列番号１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、および３６）、ならびに、表２において等、本明細書において記載されているＶＬ配列のいずれか1つである３つのＣＤＲ（配列番号３７、３８、３９、４０、４１、４２、４３、４４、４５、４６、４７、４８、４９、５０、５１、５２、５３、５４、５５、５６、５７、５８、５９、６０、６１、６２、６３、６４、６５、６６、６７、６８、６９、７０、７１、７２、および７３）を含む。提供される方法または組成物のいずれか１つのある態様において、抗体またはその抗原結合部分は、表３において記載されている通りのＶＨ配列とＶＬ配列との特定の組み合わせのいずれか１つである、ＶＨ配列の３つ

のＣＤＲとＶＬ配列の３つのＣＤＲとを含む。それゆえ、本明細書において提供される方法または組成物のいずれか１つのある態様において、その抗原結合部分は、かかる抗体の抗原結合部分である。

【０００６】

１つの側面においては、本明細書で提供されるのは、上で直接的に提供される等、本明細書において提供されるＶＨ配列のいずれか１つである３つのＣＤＲ、および／または上で直接的に提供される等、本明細書において提供されるＶＬ配列のいずれか１つである３つのＣＤＲをコードする核酸である。

【０００７】

提供される方法または組成物のいずれか１つのある態様において、抗体またはその抗原結合部分は、配列番号１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、および３６のいずれか１つに記載されている等、本明細書において提供されるＶＨアミノ酸配列のいずれか１つを含む。提供される方法または組成物のいずれか１つのある態様において、抗体またはその抗原結合部分は、配列番号３７、３８、３９、４０、４１、４２、４３、４４、４５、４６、４７、４８、４９、５０、５１、５２、５３、５４、５５、５６、５７、５８、５９、６０、６１、６２、６３、６４、６５、６６、６７、６８、６９、７０、７１、７２、および７３のいずれか１つに記載されている等、本明細書において提供されるＶＬアミノ酸配列のいずれか１つを含む。提供される方法または組成物のいずれか１つのある態様において、抗体またはその抗原結合部分は、配列番号１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、および３６のいずれか１つにおいて記載されている等、本明細書において提供されるＶＨアミノ酸配列のいずれか１つ、ならびに、配列番号３７、３８、３９、４０、４１、４２、４３、４４、４５、４６、４７、４８、４９、５０、５１、５２、５３、５４、５５、５６、５７、５８、５９、６０、６１、６２、６３、６４、６５、６６、６７、６８、６９、７０、７１、７２、および７３のいずれか１つにおいて記載されている等、本明細書において提供されるＶＬアミノ酸配列のいずれか１つを含む。提供される方法または組成物のいずれか１つのある態様において、抗体またはその抗原結合部分は、表３において記載されている等、本明細書において提供されているＶＨアミノ酸配列とＶＬアミノ酸配列との組み合わせのうちの、いずれか１つの特定の組み合わせを含む。

【０００８】

１つの側面においては、本明細書で提供されるのは、上で直接的に提供される等、本明細書において提供されるＶＨ配列のいずれか１つ、および／または上で直接的に提供される等、本明細書において提供されるＶＬ配列のいずれか１つをコードする核酸である。

【０００９】

本明細書において提供される方法または組成物のいずれか１つのある態様において、抗体またはその抗原結合部分は、３つのＣＤＲは、表１において等、本明細書において記載されているＶＨ配列（例えば、配列番号１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、および３６）のいずれか１つである３つのＣＤＲと少なくとも９０％、９５％、９６％、９７％、９８％または９９％の同一性を有する３つのＣＤＲを含む。提供される方法または組成物のいずれか１つのある態様において、抗体またはその抗原結合部分は、表２において等、本明細書において記載されているＶＬ配列（配列番号３７、３８、３９、４０、４１、４２、４３、４４、４５、４６、４７、４８、４９、５０、５１、５２、５３、５４、５５、５６、５７、５８、５９、６０、６１、６２、６３、６４、６５、６６、６７、６８、６９、７０、７１、７２、および７３）のいずれか1つである３つのＣＤＲと少なくとも９０％、９５％、９６％、９７％、９８％または９９％の同一性を有する３つのＣＤＲを含む

。提供される方法または組成物のいずれか１つのある態様において、抗体またはその抗原結合部分は、表１において等、本明細書において記載されているＶＨ配列（例えば、配列番号１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、および３６）のいずれか1つと少なくとも９０％、９５％、９６％、９７％、９８％または９９％の同一性を有する３つのＣＤＲ、ならびに、表２において等、本明細書において記載されているＶＬ配列（配列番号３７、３８、３９、４０、４１、４２、４３、４４、４５、４６、４７、４８、４９、５０、５１、５２、５３、５４、５５、５６、５７、５８、５９、６０、６１、６２、６３、６４、６５、６６、６７、６８、６９、７０、７１、７２、および７３）のいずれか1つと少なくとも９０％、９５％、９６％、９７％、９８％または９９％の同一性を有する３つのＣＤＲを含む。提供される方法または組成物のいずれか１つのある態様において、抗体またはその抗原結合部分は、表３において記載されている等、本明細書において提供されるＶＨ配列とＶＬ配列との特定の組み合わせのいずれか１つにおける、ＶＨ配列と少なくとも９０％、９５％、９６％、９７％、９８％または９９％の同一性を有する３つのＣＤＲ、ならびに、ＶＬ配列と少なくとも９０％、９５％、９６％、９７％、９８％または９９％の同一性を有する３つのＣＤＲを含む。それゆえ、本明細書において提供される方法または組成物のいずれか１つのある態様において、その抗原結合部分は、かかる抗体の抗原結合部分である。

【００１０】

１つの側面においては、本明細書で提供されるのは、上で直接的に提供される等、本明細書において提供されるＶＨ配列のいずれか１つである３つのＣＤＲ、および／または上で直接的に提供される等、本明細書において提供されるＶＬ配列のいずれか１つである３つのＣＤＲをコードする核酸である。

【００１１】

提供される方法または組成物のいずれか１つのある態様において、抗体またはその抗原結合部分は、配列番号１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、および３６のいずれか１つに記載されている等、本明細書において提供されるＶＨアミノ酸配列のいずれか１つと少なくとも８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％または９９％の同一性を有するＶＨアミノ酸配列を含む。提供される方法または組成物のいずれか１つのある態様において、抗体またはその抗原結合部分は、配列番号３７、３８、３９、４０、４１、４２、４３、４４、４５、４６、４７、４８、４９、５０、５１、５２、５３、５４、５５、５６、５７、５８、５９、６０、６１、６２、６３、６４、６５、６６、６７、６８、６９、７０、７１、７２、および７３のいずれか１つに記載されている等、本明細書において提供されるＶＬアミノ酸配列のいずれか１つと少なくとも８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％または９９％の同一性を有するＶＬアミノ酸配列を含む。提供される方法または組成物のいずれか１つのある態様において、抗体またはその抗原結合部分は、表１において等、本明細書において記載されているＶＨ配列（例えば、配列番号１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、および３６）のいずれか1つと少なくとも９０％、９５％、９６％、９７％、９８％または９９％の同一性を有する３つのＣＤＲ、ならびに、表２において等、本明細書において記載されているＶＬ配列（配列番号３７、３８、３９、４０、４１、４２、４３、４４、４５、４６、４７、４８、４９、５０、５１、５２、５３、５４、５５、５６、５７、５８、５９、６０、６１、６２、６３、６４、６５、６６、６７、６８、６９、７０、７１、７２、および７３）のいずれか1つと少なくとも９０％、９５％、９６％、９７％、９８％または９９％の同一性を有する３つのＣＤＲを含む。提供される方法または組成物のいずれか１つのある態様において、抗体またはその抗原結合部分は、表３において記載されている等、本明細書において提供されるＶＨ配列とＶＬ配列との特定の組み合わせのいずれか１つにおける、ＶＨ配列と少なくとも９０％、９５％、９６％、９７％、９８％または９９％の同一性を有する３つのＣＤＲ、ならびに、ＶＬ配列と少なくとも９０％、９５％、９６％、９７％、９８％または９９％の同一性を有する３つのＣＤＲを含む。それゆえ、本明細書において提供される方法または組成物のいずれか１つのある態様において、その抗原結合部分は、かかる抗体の抗原結合部分である。

【００１０】

１つの側面においては、本明細書で提供されるのは、上で直接的に提供される等、本明細書において提供されるＶＨ配列のいずれか１つである３つのＣＤＲ、および／または上で直接的に提供される等、本明細書において提供されるＶＬ配列のいずれか１つである３つのＣＤＲをコードする核酸である。

【００１１】

提供される方法または組成物のいずれか１つのある態様において、抗体またはその抗原結合部分は、配列番号１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、および３６のいずれか１つに記載されている等、本明細書において提供されるＶＨアミノ酸配列のいずれか１つと少なくとも８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％または９９％の同一性を有するＶＨアミノ酸配列を含む。提供される方法または組成物のいずれか１つのある態様において、抗体またはその抗原結合部分は、配列番号３７、３８、３９、４０、４１、４２、４３、４４、４５、４６、４７、４８、４９、５０、５１、５２、５３、５４、５５、５６、５７、５８、５９、６０、６１、６２、６３、６４、６５、６６、６７、６８、６９、７０、７１、７２、および７３のいずれか１つに記載されている等、本明細書において提供されるＶＬアミノ酸配列のいずれか１つと少なくとも８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％または９９％の同一性を有するＶＬアミノ酸配列を含む。提供される方法または組成

物のいずれか１つのある態様において、抗体またはその抗原結合部分は、表３において記載されている等、本明細書において提供されるＶＨアミノ酸配列とＶＬアミノ酸配列との組み合わせのうちの、いずれか１つの特定の組み合わせであるＶＨおよびＶＬ配列と、互いに独立して少なくとも８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％または９９％の同一性を有するＶＨ配列およびＶＬ配列を含む。

【００１２】

１つの側面においては、本明細書で提供されるのは、上で直接的に提供される通りのＶＨ配列および／または上で直接的に提供される通りのＶＬ配列をコードする核酸である。

【００１３】

本明細書において提供される方法または組成物のいずれか１つのある態様において、その抗原結合部分は、本明細書において提供される抗体のいずれか１つの抗原結合部分である。

【００１４】

本明細書に記載されている抗体のいずれか１つは、完全長抗体であり得る。抗体またはその抗原結合部分は、本明細書において提供される方法または組成物のいずれか１つのある態様において、ヒトのものであってもよく、ヒト化されていてもよく、またはキメラであってもよい。抗体またはその抗原結合部分は、本明細書において提供される方法または組成物のいずれか１つのある態様において、一本鎖抗体であり得る。本明細書に記載されている抗体はいずれも、モノクローナルまたはポリクローナルのいずれかであり得る。これら２つの用語は、抗体の供給源またはそれが作製される様式を限定するものではない。抗体またはその抗原結合部分は、本明細書において提供される方法または組成物のいずれか１つのある態様において、モノクローナル抗体またはその抗原結合部分であり得る。さらに、その抗原結合部分は、本明細書において提供される方法または組成物のいずれか１つのある態様において、ｓｃＦｖ、Ｆ（ａｂ’）２フラグメント、ｄＡｂフラグメント、Ｆａｂフラグメント、Ｆａｂ’フラグメント、Ｆｖ、またはジスルフィド結合したＦｖフラグメントであり得る。抗体またはその抗原結合部分は、単一ドメイン抗体、二特異性抗体（diabody）、多重特異性抗体、二重特異性抗体（bispecific antibody）、または二重特異性抗体（dual-specific antibody）であってもよい。抗体またはその抗原結合部分は、本明細書において提供される方法または組成物のいずれか１つのある態様において、単離された抗体またはその抗原結合部分であってもよい。

【００１５】

さらに開示されるのは、ＹＦＶに特異的に結合する１種以上の抗体またはその抗原結合部分の、治療的に有効な量を、かかる処置を必要とする対象に投与することにより、黄熱、または黄熱ウイルスに関連する疾患もしくは症状を処置する方法である。本明細書において提供される方法のいずれか１つのある態様において、対象は、ＹＦＶに対するワクチンを接種したことがないか、または、ＹＦＶワクチン接種が十分な保護作用をもたらさなかった対象である。本明細書において提供される方法または組成物のいずれか１つのある態様において、抗体またはその抗原結合部分は、本明細書において記載されている抗体またはその抗原結合部分のいずれか１種以上である。本明細書において提供される方法または組成物のいずれか１つのある態様において、抗体またはその抗原結合部分は、ＹＦＶのＥタンパク質またはＥ－ＤＩＩエピトープに特異的に結合する。本明細書において提供される方法または組成物のいずれか１つのある態様において、抗体またはその抗原結合部分は、黄熱ウイルスＥ－タンパク質のＥ－タンパク質またはＥ－ＤＩＩエピトープの残基９３、１０４および１０６に特異的に結合する。本明細書において提供される方法または組成物のいずれか１つのある態様において、抗体またはその抗原結合部分の量は、対象における黄熱の１つ以上の兆候を軽減するのに有効である。抗ＹＦＶ抗体またはその抗原結合部分のいずれか１つは、本明細書において提供される方法のいずれか１つにおいて、例えば、経腸経路を介して、または非経口経路を介して、全身的に投与してもよい。

【００１６】

本明細書において記載されている方法のいずれか１つにおいて処置される対象は、黄熱

を罹患しているか、または黄熱ウイルスに関連する疾患もしくは症状を有する、あるいはその疑いがある患者（例えば、ヒト患者）であり得る。本明細書において提供される方法のいずれか１つのある態様では、対象は、急性のウイルス性出血性疾患を罹患しているか、またはその疑いがあるヒト患者である。

【００１７】

またいくつかの側面では、本明細書において提供されるのは、（ａ）対象において黄熱または黄熱ウイルスに関連する疾患または症状（例えば、急性のウイルス性出血性疾患）を処置することにおける使用のための医薬組成物であって、該医薬組成物が、本明細書に記載されている抗体またはその抗原結合部分のうちのいずれか一種以上と、薬学的に許容し得る担体とを含む、前記組成物；ならびに（ｂ）対象における黄熱または黄熱ウイルスに関連する疾患または症状の処置のための医薬および／または医薬の製造における、前述の抗体またはその抗原結合部分の使用である。

【００１８】

またいくつかの側面では、本明細書において提供されるのは、抗体またはその抗原結合部分を産生するための方法、抗体またはその抗原結合部分のいずれか１つをコードする核酸、本明細書において提供される核酸のいずれか１つ以上を含むことができるベクター、および関連する宿主細胞である。

【００１９】

１つの側面では、抗体またはその抗原結合部分を産生するための方法は、本明細書に記載されている方法のうちのいずれか１つである。１つの態様においては、方法は、ウイルスアセンブリに存在する明瞭なドメイン近位構造領域（例えば、二十面体の対称軸に近い鎖間界面）を考慮すること、および有望なＦｖ足場を選択することを含む。従来のエピトープ予測方法は、ドメイン構造を使用して、ドメイン領域内に埋め込まれたエピトープ表面領域を予測する。しかしながら、中和フラビウイルス抗体は、（２本以上のＥタンパク質鎖にまたがる）４つのエピトープ表面を認識することができる。それゆえ、従来の方法では、価値のある情報は組み込まれていない。

【図面の簡単な説明】

【００２０】

【図１】図１は、マウス感染モデルにおけるＹＦ－１７Ｄ－２０４に対する人工的に作製されたｍＡｂの効力についてのin vivo試験デザインの例を示す。設計されたｍＡｂの効力は、ＡＧ１２９マウスの黄熱感染致死モデルにおいて試験した。ｍＡｂの保護効力は、予防においてまたは治療として、試験した。

【００２１】

【図２】図２Ａ～２Ｂは、黄熱ウイルスに対する設計されたｍＡｂのin vivoでの効力を示す。図２Ａは、１０ｍｇ／ｋｇの用量のｍＡｂで、予防（－１）または治療（＋１および＋１、＋４）として処置されたＹＦ－１７Ｄ感染ＡＧ１２９マウスの生存曲線を示す。図２Ｂは、感染後４日および６日における、対照群と比較した処置動物の黄熱ウイルスの血中ウイルス力価を示す。ｍＡｂの投与は、対照群と比較して完全な保護をもたらした（図２Ａ）。ｍＡｂの投与はまた、感染後４日および６日において、２Ｌｏｇ１０を超えるウイルス血症の減少をもたらした（図２Ｂ）。

【発明を実施するための形態】

【００２２】

詳細な説明

以下の記載は、単に本発明の様々な態様を具体的に説明することを意図しているに過ぎない。そのように本明細書において論じた特定の態様は、本発明の範囲の制限として解釈されるべきではない。当業者には、本発明の範囲から逸脱することなく、様々な変更がなされまたは等価物が作製され得ることは、明らかであろう。

【００２３】

本開示の様々な側面は、抗体、その抗原結合部分、およびその医薬組成物、ならびに、かかる抗体およびフラグメントを作製するための核酸、組換え発現ベクター、および宿主

細胞に関する。本明細書において提供されるのは、黄熱ウイルス（ＹＦＶ）に特異的に結合するおよび／または該ウイルスを中和する抗体および／またはその抗原結合部分である。いくつかの態様においては、抗体またはその抗原結合部分は、黄熱ウイルスのＥ－ＤＩＩエピトープに結合し、ウイルスが細胞に感染するのを抑制する。いくつかの態様では、抗体またはその抗原結合部分は、黄熱ウイルスＥタンパク質の位置１０６におけるアスパラギン、位置９３におけるリジンおよび／または位置１０４におけるリジンを含む、Ｅ－ＤＩＩエピトープに結合する。本明細書において提供される抗体および抗原結合部分は、いくつかの態様では、対象における黄熱ウイルス感染を処置または抑制するために使用される。

【００２４】

抗体（互換的に複数形で用いられる）は、本明細書において用いられる通り、広義には、免疫グロブリン（Ｉｇ）分子、または任意の機能的変異体（mutant）、バリアント(variant)、あるいはそれらの派生物をいう。機能的変異体、バリアント、およびそれらの派生物、ならびに抗原結合部分は、Ｉｇ分子の本質的なエピトープ結合特性を保持することが望ましい。

【００２５】

抗体は、免疫グロブリン分子の可変領域に位置する少なくとも１つの抗原認識部位を介して、標的に特異的に結合することができる。一般に、インタクト（intact）または全長抗体は、２つの重鎖および２つの軽鎖を含む。各重鎖は、重鎖可変領域（V_H）と、第１、第２および第３の定常領域（C_H1、C_H2およびC_H3）とを含有する。各軽鎖は、軽鎖可変領域（V_L）と定常領域（ＣＬ）とを含有する。ＶＨおよびＶＬ領域は、フレームワーク領域（ＦＲ）と呼ばれるより保存性の高い領域と共に散在している、相補性決定領域（ＣＤＲ）と呼ばれる超可変性領域にさらに細分化することができる。各ＶＨおよびＶＬは、３つのＣＤＲおよび４つのＦＲから構成され、アミノ末端からカルボキシ末端まで、以下の順序：ＦＲ１、ＣＤＲ１、ＦＲ２、ＣＤＲ２、ＦＲ３、ＣＤＲ３、ＦＲ４で配置されている。全長抗体は、ＩｇＤ、ＩｇＥ、ＩｇＧ、ＩｇＡ、またはＩｇＭ（またはそれらのサブクラス）などの任意のクラスの抗体であってもよく、抗体は特定のクラスである必要はない。その重鎖の定常ドメインの抗体アミノ酸配列に応じて、免疫グロブリンは異なるクラスに割り当てられ得る。免疫グロブリンには、ＩｇＡ、ＩｇＤ、ＩｇＥ、ＩｇＧ、およびＩｇＭの５つの主要なクラスがあり、これらのうちのいくつかは、例えば、ＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３、ＩｇＧ４、ＩｇＡ１およびＩｇＡ２などのサブクラス（アイソタイプ）にさらに分けることができる。免疫グロブリンの異なるクラスに対応する重鎖定常ドメインは、それぞれアルファ、デルタ、イプシロン、ガンマ、およびミューと呼ばれる。異なるクラスの免疫グロブリンのサブユニット構造および三次元配置はよく知られている。

【００２６】

用語「抗原結合部分は、標的に特異的に結合することができるインタクトまたは全長抗体分子の部分または領域をいう。好ましくは、本明細書において提供される抗原結合部分は、ＹＦＶに特異的に結合する能力を保持している。抗原結合部分は、重鎖可変領域（ＶＨ）、軽鎖可変領域（ＶＬ）、またはその両方を含んでいてもよい。ＶＨおよびＶＬの各々は、典型的には、３つの相補性決定領域ＣＤＲ１、ＣＤＲ２およびＣＤＲ３を含有する。

【００２７】

抗原結合部分の例としては、以下のものが含まれるがこれらに限定されない：（１）ＶＬ－ＣＬ鎖およびＶＨ－ＣＨ鎖を有する一価フラグメントであり得る、Ｆａｂフラグメント；（２）ヒンジ領域においてジスルフィド架橋により連結された２つのＦａｂフラグメントを有する二価フラグメント、すなわちＦａｂの二量体、であり得る、$F(ab')_2$フラグメント；（３）抗体の単一アーム（single arm）のＶＬおよびＶＨドメインを有するＦｖフラグメント；（４）ペプチドリンカーを介してＶＨドメインおよびＶＬドメインを構成する単一ポリペプチド鎖であり得る、一本鎖Ｆｖ（ｓｃＦｖ）；（５）ペプチドリ

ンカーによって連結された２つのＶＨドメインと、ジスルフィド架橋を介して２つのＶＨドメインに結び付けられている２つのＶＬドメインとを含み得る、（ｓｃＦｖ）$_2$；（６）ＶＨおよびＣＨＩドメインからなるＦｄフラグメント；（７）単一の可変ドメインを含む、ｄＡｂフラグメント；ならびに（８）単離された相補性決定領域（ＣＤＲ）。

【００２８】

さらに、Ｆｖフラグメントの２つのドメイン、ＶＬおよびＶＨは、別々の遺伝子によってコードされ得るが、それらは、組換え法を用いて、ＶＬおよびＶＨ領域が対となって一価の分子を形成している単一タンパク質鎖（一本鎖Ｆｖ（ｓｃＦｖ）として知られている；例えば、Birdら（1988）Science 242:423-426；およびHustonら（1988）Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:5879-5883）を参照)。かかる一本鎖抗体はまた、抗体の「抗原結合部分」という用語のなかに包含されることが意図されている。二特異性抗体などの一本鎖抗体の他の形態もまた包含される。二特異性抗体は、ＶＨおよびＶＬドメインが単一ポリペプチド鎖上で発現されるが、同じ鎖上の２つのドメイン間の対形成が可能とならない短すぎるリンカーを用い、それによってそのドメインが別の鎖の相補的ドメインと対形成するようにして、２つの抗原結合部位を作り出す、２価の二重特異性抗体である（例えば、Holliger, P.ら (1993) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:6444-6448; Poljak, R. J.ら(1994) Structure 2: 1121-1123を参照)。二特異性抗体はまた、「抗原結合部分」という用語のなかに包含される。

【００２９】

用語「ヒト抗体」は、ヒト対象から得られた抗体に実質的に対応するまたはそれに由来する、例えば、ヒト生殖細胞系免疫グロブリン配列またはそのバリアントによってコードされる、可変および定常領域を有する抗体をいう。本明細書に記載されているヒト抗体には、ヒト生殖細胞系免疫グロブリン配列によってコードされていない１つ以上のアミノ酸残基（例えば、in vitroでのランダムもしくは部位特異的変異誘発によりまたはin vivoでの体細胞変異により、導入された突然変異）が含まれていてもよい。かかる変異は、１つ以上のＣＤＲ、特にＣＤＲ３、または１つ以上のフレームワーク領域に存在していてもよい。いくつかの態様では、ヒト抗体は、ヒト生殖細胞系免疫グロブリン配列によってコードされないアミノ酸残基で置換されている、少なくとも１つ、２つ、３つ、４つ、５つ以上の位置を有していてもよい。しかしながら、用語「ヒト抗体」は、本明細書において用いられる通り、マウスなどの別の哺乳動物種の生殖細胞系に由来するＣＤＲ配列がヒトフレームワーク配列に移し替えられた抗体が含まれることは意図されていない。

【００３０】

用語「組換えヒト抗体」は、本明細書において用いられる通り、宿主細胞に形質導入された組換え発現ベクターを用いて発現された抗体、組換えコンビナトリアル（combinatorial）ヒト抗体ライブラリーから単離された抗体（Hoogenboom H. R., (1997) TIB Tech. 15:62-70; Azzazy H.およびHighsmith W. E., (2002) Clin. Biochem. 35:425-445; Gavilondo J. V.およびLarrick J. W. (2002) BioTechniques 29: 128-145; Hoogenboom H.およびChames P. (2000) Immunology Today 21:371-378)、ヒト免疫グロブリン遺伝子のトランスジェニック動物（例えば、マウス）から単離された抗体（例えば、Taylor, L. D.ら (1992) Nucl. Acids Res. 20:6287-6295; Kellermann S-A.およびGreen L. L. (2002) Current Opinion in Biotechnology 13:593-597; Little M.ら (2000) Immunology Today 21:364-370を参照）、または、ヒト免疫グロブリン遺伝子配列の他のＤＮＡ配列へのスプライシングに関与する他の任意の手段によって、調製され、発現され、作り出され、もしくは単離された抗体などの、組換え手段によって調製され、発現され、作り出され、もしくは単離された全てのヒト抗体が含まれることが意図されている。かかる組換えヒト抗体は、上記で定義されている通りの可変および定常領域を有する。しかしながら、ある態様では、かかる組換えヒト抗体は、in vitro変異誘発（または、ヒトＩｇ配列動物のトランスジェニック動物が用いられる場合には、in vivo体細胞変異誘発）を施されてもよく、したがって、組換え抗体のＶＨおよびＶＬ領域のアミノ酸配列は、ヒト生殖細胞系のＶＨおよびＶＬ配列に由来しかつ関連してはいるが、in vivoではヒト抗体生殖細胞系レパ

ートリーのなかに自然には存在しない場合がある配列であってもよい。

【００３１】

本開示のいくつかの態様は、黄熱ウイルスのＥ－ＤＩＩエピトープに結合することが可能な完全ヒト抗体を提供する。いくつかの態様においては、Ｅ－ＤＩＩエピトープは、黄熱ウイルスＥタンパク質の位置１０６におけるアスパラギン、位置９３におけるリジン、および位置１０４におけるリジンを含む。

様々なＶＨおよびＶＬ領域のタンパク質配列をそれぞれ表１および表２に示す。

【００３２】

【表１－１】

表１．可変重鎖のタンパク質配列

>VH.01;　配列番号 1
EVKLVESGGGLVKPGGSLKLSCAASGFTFTNYAMSWVRQTPEKRLEWVASISSGHTPYYPDSVKGRFTISRDNA RNILFLQMSSLRSEDTAMYYCARGDYYGSVYSAMDYWGQGTSVTVSS
>VH.11;　配列番号 2
EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFTNYAMSWVRQAPGKGLEWVSSISSGHTPYYPDSVKGRFTISRDNA KKSLYLQMNSLRAEDTALYYCARGDYYGSVYSAMDYWGQGTTVTVSS
>VH.21;　配列番号 3
EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFTDYYMSWVRQAPGKGLEWVSSISSGHTPYYPDSVKDRFTISRDNA KKSLYLQMNSLRAEDTALYYCARGDYYGTVYSAMDYWGQGTTVTVSS
>VH.31;　配列番号 4
EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGYAFTNYAMSWVRQAPGKGLEWVSSISSGHTPYYPDTVKGRFTISRDN AKKSLYLQMNSLRAEDTALYYCARGDYYGSSYSAMDYWGQGTTVTVSS
>VH.3.11;　配列番号 5
EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGYAFTNYGVNWVRQAPGKGLEWVSSISSGGSTYYPDSVKGRFTISRDNA KKSLYLQMNSLRAEDTALYYCARHDYYGSSY-AMDYWGQGTTVTVSS
>VH.3.21;　配列番号 6
EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGYAFTNYGVNWVRQAPGKGLEWVSSISSGGSTYYPDSVKGRFTISRDNA KKSLYLQMNSLRAEDTALYYCARSHYYGSSYDAMDYWGQGTTVTVSS
>VH.41;　配列番号 7
EVQLVESGAEVKKPGSSVKVSCKASGFTFTNYAMSWVRQAPGQGPEWMGSISSGHTPYYPDSVKGGRVTITA

【００３３】

【表１－２】

DDFAGTVYMELSSLRSEDTAMYYCRGDYYGSVYSAMDYWGKGTTVTVSS
>VH.51;　配列番号 8
EVQLVESGAEVKKPGSSVKVSCKASGFTFTNYAMSWVRQAPGQGPEWMGSISSGHTPYYPDSVKGRVTITAD DFAGTVYMELSSLRSEDTAMYYCARGDYYGSVYSAMDYWGKGTTVTVSS
>VH.61;　配列番号 9
QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAGFTFTNYAMSWVRQAPEQGLEWMGSISSGHTPYYPDSVKGRVTMTAD TSTNTAYMELRSLRSDDTAVYYCARGDYYGSVYSAMDYWGQGTLVTVSS
>VH.71;　配列番号 10
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCSASGFTFTNYAMSWVRQAPGKGLEYVSSISSGHTPYYPDSVKGRFTISRDNSK NTLYFEMNSLRPEDTAVYYCVRGDYYGSVYSAMDYWGQGTTVTVSS
>VH.1;　配列番号 11
ASVLSEVQLQQSGPELVKPGASVKLSCKTSENTFTEYTMHWVKQSHGKSLEWIGGIDPNNGGTNYNQKFKGK ATLTVDKSSNTAYMELRSLTSEDSAVYYCGRRDYYALDYWGQGTSVTVAS
>VH.2;　配列番号 12
QVQLQQPGAELVKPGASVKLSCKASGYTFTSYWMHWVKLRPGQGFEWIGDINPNNGGPSYNEKFKRKATLTV DTSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCTIDDGYRFGYWGQGTLVTVSA
>VH.3;　配列番号 13
QVQLQQSGSELMKPGASVQISCKATGYTFSDYWIEWVKQRPGHGLEWIGDILCGTGRTRYNEKLKAMATFTA DTSSNTAFMQLSSLTSEDSAVYYCARSASYGDYADYWGHGTTLTVSS
>VH.4;　配列番号 14
AQLQQSGTGLARPGASVKLSCKASGYTFTSYGISWVTQRAGQGLEWIGVIYPRSGNTYYNEKFRGKATLTADKS SSSAYMELRGLTAEDSAVYFCARENYGSVYWGQGTTLTVSS
>VH.5;　配列番号 15
EVQLQQSGAELVKPGASVKLSCTASGFNIKDTYMHWVKQRPEQGLEWIGRIDPANGYSKYDPKFQGKATITAD TSSNAAYLQLSSLTSEDTAVYFCARDYEGFAYWGQGTLVTVSS
>VH.6;　配列番号 16
EVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFSFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWYDGSKTYYGDSVKGRFTISK DNSKKMVNLQMDSLGVEDTAFYYCARGIAGGWAFWGIDLWGQGTLVTVSS
>VH.7;　配列番号 17
EVQLQQSGAELVKPGASVKLSCTASGFNIKDTYMHWVKQRPEQGLEWIGRIDPANGYSKYDPKFQGKATITAD TSSNAAYLQLSSLTSEDTAVYFCARDYEGFAYWGQGTLVTVSS
>VH.8;　配列番号 18
EVQLVQSGAEVRKPGASTKVSCKASGYTFTHYYMHWVRQAPGQGLEWMGIINPSGGSTTYAQKLQGRVTMT RDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARDWGSNYVWGSYPKYWGQGTLVTVSS
>VH.9;　配列番号 19
EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFNDYAMHWVRQAPGKGLEWVSTISWNSGSIGYADSVKGRFTISR DNAKKSLYLQMNSLRAEDTALYYCAKDIQYGNYYYGMDVWGQGTTVTVSS
>VH.10;　配列番号 20
DVQLVEPGAELVQPGASVKMSCKASGYTFSSYWINWEKQRPGKGLEWIGNIYPGSGTVNYDDKFKSKATLTID TSSNTAYMQLSSLTSEDSAVYYCTRGGSHAMDYWGQGTSVTVSS
>VH.11;　配列番号 21
EVQLVESGGGLVRPGGSLRLSCAASGFSYSNHWMHWVRQAPGKGLVWVSRINSDGSTRNYADFVKGRFTISR DNAENTLYLEMNSLTADDTAVYYCVRDGVRFYYDSTGYYPDSFFKYGMDVWGQGTTVTVSS
>VH.12;　配列番号 22
EVQLVESGGGLVRPGGSLRLSCAASGFSYSNHWMHWVRQAPGKGLVWVSRINSDGSTRNYADFVKGRFTISR DNAENTLYLEMNSLTADDTAVYYCVRDGVRFYYDSTGYYPDSFFKYGMDVWGQGTTVTVSS
>VH.13;　配列番号 23
EVKLVESGGGLVLPGGSLRLSCATSGFTFTDYYMTWVRQPPGKALEWLGFIGNKANDYTTEYSASVKGRFTISR DDSQSILYLQMSTLRAEDRATYYCATVYGNYPYFDVWGAGTTVAVSS
>VH.14;　配列番号 24

【００３４】

【表１－３】

EVQLVESGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFNNYAISWVRQAPGQGLEWMGGIIPIFGGANYAQKFQGRVTITAD RSTSTVYMELSGLRSEDTAVYYCARRPQSIFDWNFDLWGRGTLVTVSSAGTKGPS
>VH.15;　配列番号 25
EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFSSHWMHWVRQAPGKGLVWVSRTNSDGSSTSYADSVKGRFMIS RDNSKNTVYLHMNGLRAEDTAVYFCARDGVRYYYDSTGYYPDNFFQYGLDVWGQGTTVTVSSA
>VH.16;　配列番号 26
EVQLQQSGPELVKPGASVKISCKASGYTFTDYNMHWVKQSHGKSLEWVGYTYPYNGGIGYNQKFKSKATLTLD NSSRTAYMELRSLTSEDSAVYYCVRRGYRYDGAHFDYWGQGTTLTVSS
>VH.17;　配列番号 27
DVQLVESGGGLVQPGGSRKLSCAASGFTFSSFGMHWVRQAPEKGLEWVAYISSGSSTLHYADTVKGRFTISRD NPKNTLFLQMTSLRSEDTAMYYCARWGNYPHYAMDYWGQGTSVTVSS
>VH.18;　配列番号 28
QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAGFNIKDVYMSWVRQAPEQGLEWMGRIDPENGDTKYDPKLQGRVTMT ADTSTNTAYMELRSLRSDDTAVYYCARGWEGFAYWGQGTLVTVSS
>VH.19;　配列番号 29
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCSASGFTFSTYSMHWVRQAPGKGLEYVSAITGEGDSAFYADSVKGRFTISRDN SKNTLYFEMNSLRPEDTAVYYCVGGYSNFYYYYTMDVWGQGTTVTVSSG
>VH.20;　配列番号 30
EVQLVESGGGLVRPGGSLRLSCAASGFSYSNHWMHWVRQAPGKGLVWVSRINSDGSTRNYADFVKGRFTISR DNAENTLYLEMNSLTADDTAVYYCVRDGVRFYYDSTGYYPDSFFKYGMDVWGQGTTVTVSS
>VH.21;　配列番号 31
DVQLVESGGGLVQPGGSRKLSCAASGFTFSSFGMHWVRQAPEKGLEWVAYISSGSSTLHYADTVKGRFTISRD NPKNTLFLQMTSLRSEDTAMYYCARWGNYPHYAMDYWGQGTSVTVSS
>VH.22;　配列番号 32
QVQLQQPGAELVKPGASVKMSCKASGYTFTSYNMHWVKQTPGRGLEWIGAIYPGNGDTSYNQKFKGKATLT ADKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARSTYYGGDWYFNVWGAGTTVTVSA
VH.23;　配列番号 33
QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYAFSYSWINWVRQAPGQGLEWMGRIFPGDGDTDYNGKFKGRVTIT ADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARNVFDGYWLVYWGQGTLVTVSS
>VH.24;　配列番号 34
EVQLVESGAEVKKPGSSVKVSCKASGGPFRSYAISWVRQAPGQGPEWMGGIIPIFGTTKYAPKFQGRVTITADD FAGTVYMELSSLRSEDTAMYYCAKHMGYQVRETMDVWGKGTTVTVSS
>VH.25;　配列番号 35
EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYIMMWVRQAPGKGLEWVSSIYPSGGITFYADTVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARIKLGTVTTVDYWGQGTLVTVSS
>VH.26;　配列番号 36
QVTLRESGPALVKPTQTLTLTCTFSGFSLSTAGMSVGWIRQPPGKALEWLADIWWDDKKHYNPSLKDRLTISKD TSKNQVVLKVTNMDPADTATYYCARDMIFNFYFDVWGQGTTVTVSS

【００３５】

【表２－１】

表２．可変軽鎖のタンパク質配列

>VL.0;　配列番号 37
DIRMTQSPSSMYASLGERVTVTCKASQDINSYLSWLQQKPGKSPKTLIYRANRLFDGVPSRFSGSGSGQDYSLTIS SLEYEDMGIFYCLQYDEFPFTFGSGTKLEIK
>VL.111;　配列番号 38
DIRMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDINSYLSWLQQKPGKSPKTLIYRANRLFDGVPSRFSGSGSGTDFTLTISS LQPEDFAIYYCLQYDEFPFTFGSGTKVEIK
>VL.1.11;　配列番号 39
DIRMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDINSYLNWLQQKPGKSPKTLIYRVNRLVDGVPSRFSGSGSGTDFTLTIS SLQPEDFAIYYCLQYDEFPYTFGSGTKVEIK

【００３６】
【表２－２】

>VL.1.21;　配列番号 40
DIRMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDIKSYLSWLQQKPGKSPKTLIYRVNRLVDGVPSRFSGSGSGTDFTLTISS LQPEDFAIYYCLQYDEFPYTFGSGTKVEIK
>VL.1.31;　配列番号 41
DIRMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDINSYLNWLQQKPGKSPKTLIYRVNRLVDGVPSRFSGSGSGTDFTLTIS SLQPEDFAIYYCLHYDEFPYTFGSGTKVEIK
>VL.1.41;　配列番号 42
DIRMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDIKSYLSWLQQKPGKSPKTLIYRVNRLVDGVPSRFSGSGSGTDFTLTISS LQPEDFAIYYCLHYDEFPYTFGSGTKVEIK
>VL.211;　配列番号 43
DIRMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDINSYLSWLQQKPGKSPKTLIYRANRLMIGVPSRFSGSGSGTDFTLTISS LQPEDFAIYYCLQYDDFPLTFGSGTKVEIK
>VL.311;　配列番号 44
DIRMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDINSFLTWLQQKPGKSPKTLIYRANRVFDGVPSRFSGSGSGTDFTLTISS LQPEDFAIYYCLQYDDFPLTFGSGTKVEIK
>VL.411;　配列番号 45
QSVLTQPPSVSAAPGQKVTISCKASQDINSYLSWYQQLPGTAPKLLIYRANRLFDGIPDRFSGSKSGTSATLGITGL QTGDEANYYCLQYDEFPFTFGGGTKLTVL
>VL.511;　配列番号 46
DIVMTQSPASLAVSLGQRATISCKASQDINSYLSWYQQKPGQPPKLLIYRANRLFDGVPDRFSGSGSGTDFTLTIS SLQAEDVAVYYCLQYDEFPFTFGQGTKLEIKR
>VL.611;　配列番号 47
EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCKASQDINSYLSWYQHKPGQAPRLLIYRANRLFDGVPARFSGSRSGTDFTLTISTL EPEDFAVYYCQLQYDEFPFTFGQGTKVEIK
>VL.1;　配列番号 48
DIVMTQSQKFMSTSVGDRVSITCKASQHVGSAVAWYQQKPGQSPTLLIHSASNRYTGVPDRFTGSGSGTDFTLT ISNIQSEDLADYFCQQYNSYPTFGGGTKLEIK
>VL.2;　配列番号 49
DIQMTQSPASLSASVGETVTITCRASGNIHNYLAWYQQKQGKSPQLLVYNAKTLADGVPSRFSASGSGTQYSLKI NSLQPEDFGSYYCQHFWSTPRTFGGGTKLEIKR
>VL.3;　配列番号 50
DIVMTQSHKFMSTSVGDRVSITCKASQDVSTAVAWYQQKPGQSPKLLISWASTRHTGVPDRFTGSGSGTDYTLT ISSVQAEDLALYYCQQHYTTPLTFGAGTKLELK
>VL.4;　配列番号 51
DIVMTQSQKFMSTSVGDRVSITCKASQNVGTAVAWYQQKPGQSPKLLIYSASNRYTGVPDRFTGSGSGTDFTLT ISNMQSEDLADYFCQQFSSYPYTFGGGTKLEIK
>VL.5;　配列番号 52
DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASESVVRYGNSFMHWYQQKPGQPPKLLIYRASSLESGIPTRFSGSGSRTDFTL TINPVEADDVATYYCQQTNVDPWAFGGGTKLEIK
>VL.6;　配列番号 53
DVVMTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQNVYSYLGWYQHKPGRSPRLLIFGVTSRATGVPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYCQQYAGSAYTFGQGTKVEIKR
>VL.7;　配列番号 54
DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASESVVRYGNSFMHWYQQKPGQPPKLLIYRASSLESGIPTRFSGSGSRTDFTL TINPVEADDVATYYCQQTNVDPWAFGGGTKLEIK
>VL.8;　配列番号 55
QSVLTQPSSVSGTPGQRVTISCSGSSSNIGSNTVNWYQQLPGTAPKLLIYGNNQRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAI SGLQSEDEADYYCAAWDDSLNGPVFGGGTKLTVLG
>VL.9;　配列番号 56
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRTSQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL

【００３７】

【表２－３】

QPEDFATYYCQQSYSTPRTFGQGTKVEIK
>VL.10;　配列番号 57
DIVMTQSQKFMSTSVGDRVSITCKASQNVRTSVAWYQQKPGQSPKALIYLASNRHTGVPDRFTGSGSGTDFTLT ISNVQSEDLADYFCLQHWTYPYTFGGGTKLEIK
>VL.11;　配列番号 58
GASQSVLTQPVSVSGSPGQSITISCTGTSSNADTYNLVSWYQQRPGKAPKLMIYEGTKRPSGVSNRFSASKSATA ASLTISGLQPEDEADYYCCSYATSRTLVFGGGTKLTVV
>VL.12;　配列番号 59
GASQSVLTQPVSVSGSPGQSITISCTGTSSNADTYNLVSWYQQRPGKAPKLMIYEGTKRPSGVSNRFSASKSATA ASLTISGLQPEDEADYYCCSYATSRTLVFGGGTKLTVVAA
>VL.13;　配列番号 60
QIVLTQSPAIMSASPGEKVTMTCSASSSVSYMHWYQQKSGTSPKIWIYESSKLASGVPVRFSGSGSGTSYSLTISS MEAEDVATYYCQQWSSHPHPLTFGAGTKLELK
>VL.14;　配列番号 61
QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSSNVGSNYVYWYQQLPGTAPKLLIYRNNRRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAI SGLRSEDEADYYCATWDDSLSGLVFGGGTKLTVLGQPKA
>VL.15;　配列番号 62
RSQSALTQPASVSGSPGQSITISCTGISSDVETYNLVSWYEQHPGKAPKLIIYEASKRPSGVSNRFSGSKSGNTASLA ISGLQAEDEADYYCCSYAGGKSLVFGGGTRLTVLGQP
>VL.16;　配列番号 63
DIKMTQSPSSMYASLGERVTITCKASQGINSDLSWFQQKPGKSPKTLIYRANRLVDGVPSRFSGSGSGQDYSLTIS SLEYEDMGIYYCLQYDEFPLTFGAGTKLELK
>VL.17;　配列番号 64
NIVMTQSPKSMSMSVGERVTLTCKASENVGTYVSWYQQKPEQSPKLLIYGASNRYTGVPDRFTGSGSATDFTLTI SSVQAEDLADYHCGQSYSTPYTFGGGTKLEIK
>VL.18;　配列番号 65
DIVMTQSPASLAVSLGQRATISCRASENVDKYGNSFMHWYQQKPGQPPKLLIYRASELQWGVPDRFSGSGSGT DFTLTISSLQAEDVAVYYCQRSNEVPWTFGQGTKLEIKRTVAHHHHHH
>VL.19;　配列番号 66
SEIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSISTFLAWYQHKPGQAPRLLIYDASTRATGVPARFSGSRSGTDFTLTISTL EPEDFAVYYCQQRYNWPPYTFGQGTKVEIK
>VL.20;　配列番号 67
QSVLTQPVSVSGSPGQSITISCTGTSSNADTYNLVSWYQQRPGKAPKLMIYEGTKRPSGVSNRFSASKSATAASLT ISGLQPEDEADYYCCSYATSRTLVFGGGTKLTVVGQP
>VL.21;　配列番号 68
NIVMTQSPKSMSMSVGERVTLTCKASENVVTYVSWYQQKPEQSPKLLIYGASNRYTGVPDRFTGSGSATDFTLTI SSVQAEDLADYHCGQGYSYPYTFGGGTKLEIK
>VL.22;　配列番号 69
QIVLSQSPAILSASPGEKVTMTCRASSSVSYIHWFQQKPGSSPKPWIYATSNLASGVPVRFSGSGSGTSYSLTISRV EAEDAATYYCQQWTSNPPTFGGGTKLEIK
>VL.23;　配列番号 70
DIVMTQTPLSLPVTPGEPASISCRSSKSLLHSNGITYLYWYLQKPGQSPQLLIYQMSNLVSGVPDRFSGSGSGTDFT LKISRVEAEDVGVYYCAQNLELPYTFGGGTKVEIK
>VL.24;　配列番号 71
QSVLTQPPSVSAAPGQKVTISCSGSSSNIGNDYVSWYQQLPGTAPKLLIYDNNKRPSGIPDRFSGSKSGTSATLGIT GLQTGDEANYYCATWDRRPTAYVVFGGGTKLTVL
>VL.25;　配列番号 72
QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGGYNYVSWYQQHPGKAPKLMIYDVSNRPSGVSNRFSGSKSGNTAS LTISGLQAEDEADYYCSSYTSSSTRVFGTGTKVTVL
>VL.26;　配列番号 73

【００３８】

【表２－４】

DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCSASSRVGYMHWYQQKPGKAPKLLIYDTSKLASGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSL QPDDFATYYCFQGSGYPFTFGGGTKVEIK

【００３９】

「単離された」物質は、人の手によって自然の状態から改変されたものを意味する。自然界に「単離された」物質が存在する場合、それは、その元の環境から変更されているか、または取り除かれているか、あるいはその両方を意味する。例えば、生体内に自然に存在するポリペプチドは「単離」されていないが、そのポリペプチドが、その自然な状態の共存物質から実質的に分離されている場合、および／または実質的に純粋な状態で存在する場合、そのポリペプチドは「単離」されている。

【００４０】

用語「特異的に結合する」または「特異的結合」は、抗原のエピトープへの抗体またはその抗原結合部分の結合などの、２つの分子間の非ランダムな結合反応をいう。標的またはエピトープに「特異的に結合する」抗体またはその抗原結合部分は、当技術分野でよく理解されている用語であり、かかる特異的結合を決定する方法はまた当技術分野でよく知られている。分子は、別の標的／エピトープと反応するよりも、特定の標的抗原またはエピトープと、より頻繁に、より迅速に、より長い持続時間で、および／またはより高い親和性で反応または結合する場合に、「特異的結合」を示すと言われている。抗体またはその抗原結合部分は、他の物質に結合するよりも、より高い親和性、結合力（avidity）、より容易に、および／またはより長い持続時間で結合する場合、標的抗原に「特異的に結合」する。ある態様においては、抗体は、タンパク質および／または高分子の複合体混合物中でその標的抗原を選択的に認識する場合、抗原を特異的に結合すると言われている。

【００４１】

「エピトープ」は、抗体によって結合される抗原の領域である。この用語には、免疫グロブリンに特異的に結合することが可能な任意のポリペプチド決定基（determinant）が含まれる。ある態様においては、エピトープ決定基は、アミノ酸、糖側鎖、ホスホリル、またはスルホニルなどの、化学的に活性な分子表面集団（surface grouping of molecule）を含み、およびある態様においては、特定の三次元構造特性、および／または特定の電荷特性を有してもよい。

【００４２】

本明細書において使用される通り、用語「中和」は、標的タンパク質（例えば、黄熱ウイルスＥタンパク質）の生物学的活性などの活性の中和をいう。一つの態様において、中和抗体は、黄熱ウイルスＥ－タンパク質のＥ－ＤＩＩエピトープに結合し、ならびに、黄熱ウイルスの生物学的活性の阻害をもたらし、および／またはウイルスが細胞に感染するのを抑制する。

【００４３】

対象は、ヒトであってもよいが、他の哺乳動物、特にヒト疾患の実験モデルとして有用な哺乳動物、例えばマウス、ラット、ウサギ、イヌなども含む。

【００４４】

用語「処置する（treat）」、「処置（treatment）」または「処置すること（treating）」は、ヒトを含む対象が、直接的または間接的に対象の症状を改善することを目的として医学的援助を施される行為、適用または治療をいう。特に、この用語は、いくつかの態様において、発生率を減少させること、または１つ以上の症状を軽減すること、再発を排除すること、再発を抑制すること、発生率を抑制すること、１つ以上の症状を改善すること、および／または予後を改善すること、あるいはそれらの組み合わせをいう。当業者は、処置が必ずしも症状の完全な不在または除去をもたらすものではないことを理解するであろう。例えば、黄熱ウイルスに関して、「処置（treatment）」または「処置すること（treating）」は、黄熱によって引き起こされる急性のウイルス性出血性疾患の重症度または持続時間を減少させることをいう場合もある。

【００４５】
本明細書において用いられる、薬理学的製剤の投与との関連において「有効量」または「有効用量」または「治療的有効量」は、かかる量を与えられていない対応する対象と比較して、意図した薬理学的結果、あるいは、疾患もしくは疾患の症状、障害もしくは副作用の処置、治癒、抑制もしくは寛解における作用、または疾患もしくは障害もしくはそのあらゆる症状の進行速度の低下をもたらす、薬剤または医薬製剤（例えば、抗体またはその抗原結合フラグメントもしくは抗原結合部分、あるいはこれを含む組成物）の量をいう。薬理学的薬剤の有効量または用量は、採用される特定の活性成分、投与様式、および／または処置される対象の年齢、大きさ、および状態に依存して変化し得る。

【００４６】
本開示はまた、黄熱ウイルスＥ－タンパク質のＥ－ＤＩＩエピトープに特異的に結合する抗体またはその抗原結合部分を含む組成物（例えば、医薬組成物）を提供する。いくつかの態様においては、Ｅ－ＤＩＩエピトープは、黄熱ウイルスＥ－タンパク質の位置１０６におけるアスパラギン、位置９３におけるリジン、および位置１０４におけるリジンを含む。組成物は、本明細書に記載されている抗体または抗原結合部分のうちのいずれか１つから調製することができる。本明細書に記載されている通り、抗体またはその抗原結合部分、およびそれをコードする核酸または核酸セット、それを含むベクター、または該ベクターを含む宿主細胞は、標的疾患の処置に用いられるための医薬組成物を形成するといったように、薬学的に許容し得る担体（賦形剤）と混合することができる。緩衝剤を含む薬学的に許容し得る賦形剤（担体）は、当技術分野でよく知られている。例えば、Remington：The Science and Practice of Pharmacy 20th Ed. (2000) Lippincott WilliamsおよびWilkins, Ed. K. E. Hooverを参照。

【００４７】
医薬組成物は、凍結乾燥製剤または水溶液の形態で、薬学的に許容し得る担体、賦形剤、または安定化剤を含むことができる。(Remington：The Science and Practice of Pharmacy 20th Ed. (2000) Lippincott WilliamsおよびWilkins, Ed. K. E. Hoover)。許容し得る担体、賦形剤、または安定化剤は、使用される用量および濃度において受容者に無毒であり、リン酸塩、クエン酸塩、および他の有機酸などの緩衝剤；アスコルビン酸およびメチオニンを含む酸化防止剤；（塩化オクタデシルジメチルベンジルアンモニウムなどの）防腐剤；塩化ヘキサメトニウム；塩化ベンザルコニウム、塩化ベンゼトニウム；フェノール、ブチルまたはベンジルアルコール；メチルまたはプロピルパラベンなどのアルキルパラベン；カテコール；レゾルシノール；シクロヘキサノール；３－ペンタノール；およびｍ－クレゾール）；（約１０残基未満）の低分子量ポリペプチド；血清アルブミン、ゼラチンまたは免疫グロブリンなどのタンパク質；ポリビニルピロリドンなどの親水性ポリマー；グリシン、グルタミン、アスパラギン、ヒスチジン、アルギニンまたはリジンなどのアミノ酸；単糖類、二糖類、および、グルコース、マンノース、またはデキストランを含む他の炭水化物；ＥＤＴＡなどのキレート剤；ショ糖、マンニトール、トレハロース、またはソルビトールなどの糖類；ナトリウムなどの塩形成性対イオン；金属錯体（例えば、Ｚｎ－タンパク質複合体）；および／またはＴＷＥＥＮ（商標）（ポリソルベート）、ＰＬＵＲＯＮＩＣＳ（商標）（ポロキサマー）またはポリエチレングリコール（ＰＥＧ）などの非イオン性界面活性剤を含んでもよい。

【００４８】
本開示の組成物に関連して用いられる通り、「薬学的に許容し得る」という句は、生理学的に耐容性であり、かつ対象に投与された場合に典型的には望ましくない反応を生じない、かかる組成物の分子実体および他の成分をいう。好ましくは、本明細書において用いられる通り、用語「薬学的に許容し得る」は、連邦政府もしくは州政府の規制当局によって承認されているか、または哺乳動物、およびより具体的にはヒトにおける使用のために米国薬局方もしくは他の一般的に認められた薬局方に掲載されていることを意味する。「許容し得る」は、担体が組成物の活性成分（例えば、核酸、ベクター、細胞、または治療用抗体）と適合性があり、組成物が投与される対象に悪影響を及ぼさないことを意味する

。本発明の方法において用いられる医薬組成物はいずれも、凍結乾燥形態または水溶液の形態で、薬学的に許容し得る担体、賦形剤、または安定化剤を含むことができる。

【００４９】

緩衝剤を含む薬学的に許容し得る担体は、当技術分野でよく知られており、リン酸塩、クエン酸塩、および他の有機酸；アスコルビン酸およびメチオニンを含む酸化防止剤；防腐剤；低分子量ポリペプチド；血清アルブミン、ゼラチン、または免疫グロブリンなどのタンパク質；アミノ酸；疎水性ポリマー；単糖類；二糖類；および他の炭水化物；金属錯体；および／または非イオン性界面活性剤を含んでもよい。例えば、Remington：The Science and Practice of Pharmacy 20th Ed. (2000) Lippincott WilliamsおよびWilkins, Ed. K. E. Hooverを参照。

【００５０】

医薬組成物は、単位用量形態で提示することができ、および任意の適切な方法によって調製することができ、その多くは周知である。かかる方法には、抗ＹＦＶ抗体を、１つ以上の付属成分を構成する担体と関連させるステップが含まれてもよい。

【００５１】

本明細書において提供される組成物は、好ましくはいくつかの態様では受容者の血液と等張性である、無菌水性調製物であり得る。この水性調製物は、適切な分散剤または湿潤剤および懸濁剤を用いて、既知の方法に従い製剤化することができる。無菌水性調製物はまた、非毒性の非経口的に許容し得る希釈剤または溶媒中の、無菌注射可能溶液もしくは懸濁液であってもよい。採用することができる許容し得るビヒクルおよび溶媒には、水、リンゲル溶液、および等張性塩化ナトリウム溶液がある。

【００５２】

本明細書において用いられる通り、用語「ベクター」は、それが連結された別の核酸を運搬することができる核酸分子をいうことが意図されている。ベクターの１つの種類は「プラスミド」であり、これは、その中に追加のＤＮＡセグメントがライゲーションされてもよい円形の二本鎖ＤＮＡループをいう。さらに、ベクターは、それが動作可能に連結されている遺伝子の発現を指示することが可能であってもよい。かかるベクターは、本明細書において、「組換え発現ベクター」または「発現ベクター」と称される。

【００５３】

本明細書において用いられる通り、用語「組換え宿主細胞」または「宿主細胞」は、外因性ＤＮＡが導入された細胞をいうことが意図されている。かかる用語は、特定の対象細胞だけでなく、かかる細胞の子孫をいうことが意図されていることが理解されるべきである。変異または環境の影響のいずれかにより、ある種の変化が後続世代で生じる場合があるため、かかる子孫は、実際には親細胞と同一ではない場合もあるが、本明細書において用いられる通りの用語「宿主細胞」の範囲内に含まれる。

【実施例】

【００５４】

例

抗ＹＦＶモノクローナル抗体は、エンベロープドメインＩＩ融合ループに焦点を当てた、ＹＦＶエンベロープタンパク質エピトープの構造誘導解析を用いて設計される。黄熱ウイルス表面上の変異拘束性エピトープを同定する。次いで、エピトープ－パラトープ拘束を満たす適切な抗体足場（scaffold）を同定し、ウイルスを標的とし中和する抗体を人工的に作製する。

【００５５】

抗ＹＦＶ抗体は、既知の方法を用いてクローニングし、発現させおよび精製し、発現および生物物理学的特性についてスクリーニングする。in silicoで設計された抗体は、哺乳動物発現ベクターにクローニングし、さらなる解析のために精製する。発現だけでなく、純度および安定性の指標となる様々な分析パラメータを評価する。黄熱ウイルスに対する抗体の効果は、in vitroおよびin vivo感染モデルを用いて評価する。

人工的に作製された抗体のin vitro中和能（neutralization potency）は、黄熱ウイルス

のＹＦ１７Ｄ－２０４ワクチン株に対し、プラーク減少中和試験（ＰＲＮＴ）を用いて評価する。選択した抗体については、ＹＦＶ感染のマウスモデルを用いて効果の追加評価を行う。

【００５６】

抗ＹＦ ｍＡｂの理論的設計

有望な抗ＹＦＶモノクローナル抗体は、広範な株を中和し、かつ強固な保護に関連する領域を標的としなければならない。エピトープは、治療用抗体の効力において重要な役割を果たす。ＹＦＶ感染においては、エンベロープ（Ｅ）タンパク質が中和抗体の優勢な標的である。有望なエピトープを規定するため、ＹＦＶアセンブリ全体の構造ガイド（structure-guided）解析を行って、空間的にクラスター化されていて、溶媒にアクセス可能であり、かつ配列が保存されている残基を同定した。これは、（ＹＦＶエンベロープタンパク質配列のアラインメントから計算された）配列保存スコアを、ＹＦＶ　Ｅタンパク質全体のアセンブリの相同性モデルにマッピングすることによって行った。７０％超の配列保存度および＞４０％の溶媒にアクセス可能な表面積を有する残基を、推定エピトープ残基とみなした。この解析によれば、ドメインＩＩ（Ｅ－ＤＩＩ）疎水性融合ループの近位にある領域は、高度にアクセス可能であり、ＹＦＶ株間で保存されているようであった。

【００５７】

Ｅ－ＤＩＩエピトープに対する抗体を人工的に作製するために、相同性の高いエピトープ表面を認識するＦｖ足場について、構造ガイド検索を行った。有望な足場は、（ソフトウェアＺＲＡＮＫを用いて）エピトープに対してドッキングさせ、形状の相補性（＞０．６）、埋没表面積（１，０００Ｓｑ．Ａ°）、および重要なＥ－ＤＩＩエピトープ残基（Ｅ－タンパク質のＮ１０６、Ｋ９３およびＫ１０４；番号は１７Ｄ ＹＦワクチン株の一次配列に対応する）と接触する可能性に基づいて、ランク付けした。次いで、トップランクの足場のＣＤＲループを、エピトープと最適に接触するようにロゼッタ抗体デザイン（Rosetta Antibody Design）により再設計した。人工的に作製された抗体は、ＹＦＶのin vitro中和についてスクリーニングした。

【００５８】

表１および２において提供されたＶＨおよびＶＬドメインをコードする合成ＤＮＡ配列は、哺乳動物発現ベクターへ、ＩｇＧ１定常領域を有するフレーム内にクローニングし、重鎖および軽鎖の様々な組み合わせを、少なくとも１１０個のＹＦＶ抗体となるよう組み合わせた。かかる組み合わせの例を以下の表３に示す。

【００５９】

【表３】

表３．ＹＦ抗体の組み合わせ

	pVL.0	pVL.1	pVL.1.1	pVL.1.2	pVL.1.3	pVL.1.4	pVL.2	pVL.3	pVL.4	pVL.5	pVL.6
pVH.0	1	2					3	4			
pVH.1	5	6					7	8			
pVH.2	9	10					11	12			
pVH.3	13	14					15	16			
pVH.3.1			22	23	24	25					
pVH.3.2			26	27	28	29					
pVH.4									18		
pVH.5									19		
pVH.6										20	
pVH.7											21

【００６０】

発現レベルおよび生物物理学的特性の具体例

ＹＦＶ抗体のサブセットを、Ｅｘｐｉ２９３細胞での大規模なトランスフェクションから精製した。細胞培養上清からのタンパク質は、HiTrap Protein Aカラムを用いて精製した。透析後、タンパク質濃度を、理論的消光係数を用いるnanodropにより推定した。様々な抗体の収量は表４に要約されている。

【００６１】

【表４】

表４．Ｅｘｐｉ２９３細胞において発現されたＹＦ ｍＡｂの収量

mAb	発現 mg/L
1	34.4
2	171
3	65.8

【００６２】

さらに、様々な抗体の純度および安定性を、（１）ＵＶ分光法、（２）サイズ排除クロマトグラフィー、（３）マイクロ流体キャピラリー電気泳動および（４）サーマルシフト色素解離アッセイによってそれぞれ決定した。かかる生物物理学的解析パラメータの具体例は、以下の表５に要約されている。

【００６３】

【表５】

表５．選択されたＹＦ抗体の純度および安定性

			1	2
Ab 最大 1 (nm)			228	228
Ab 最大 2 (nm)			278	279
E1% (g/100 mL)			14.2	13.8
HMW-1 (%)			0.16	0
HMW-2 (%)			0.68	0.62
モノマー (%)			99.04	98.99
LMW (%)			0.12	0.39
還元	LC	大きさ(kDa)	26.3	26.1
		全体における%	30.6	30.5
	HC	大きさ(kDa)	58.5	58.4
		全体における%	68.7	69.5
インタクト		大きさ (kDa)	154.7	154.8
		全体における%	88.0	87.0
融解温度		T_m (°C)	69.0	69.1

【００６４】

様々な抗体のグリコフォーム（glycoform）の追加的特性は、プロカインアミド標識による補助を用いたＬＣ－ＦＬＤ－ＭＳによって決定した。観察されたグリコシル化プロファイルの具体例は以下の通りである（表６）。

【００６５】

【表６】

表６．グリコシル化プロファイル

グリカン	1 (%)	2 (%)
Man5	0.8 ± 0.01	1.2 ± 0.07
G0	0.3 ± 0.00	0.5 ± 0.03
G0F	42.9 ± 0.05	51.6 ± 1.27
G1	0.1 ± 0.00	0.2 ± 0.02
G1F	29.4 ± 0.14	25.2 ± 0.12
G1'F	15.8 ± 0.04	15.3 ± 0.70
G2F	10.5 ± 0.12	6.0 ± 0.32
A1F	0.2 ± 0.00	0.1 ± 0.01

【００６６】

ＹＦ－１７Ｄに対する人工的に作製された抗体の中和能の具体例

ＹＦＶ（１７Ｄ－２０４）に対するＹＦＶ抗体の中和効力を決定するために、プラーク減少中和試験（ＰＲＮＴ）を行った。ベロ細胞を、ウイルス単独、ウイルスなし、または様々な希釈のＹＦＶ抗体と予めインキュベートしたウイルスのいずれかにより感染させた。プレートを７日間インキュベートし、固定し、プラーク形成を可視化するためにクリスタルバイオレットで染色した。中和曲線は、Prismソフトウェアを用いて作成し（図１）、５０％有効濃度値（ＥＣ５０）は、可変勾配を用いた非線形回帰により算出した（表６）。抗体の中和効力は、プラークの減少に正比例し、その中和能はウイルス粒子の５０％が中和される濃度として表現されている。抗体は、ウイルスを中和することにおいて非常に強力であり、具体例は、以下の表７に示されている。

【００６７】

【表７】

表７．ＹＦｍＡｂについてのＥＣ５０値の概要

mAb	EC50 (μg/ml)	STDEV
1	0.012	0.006
2	0.007	0.002
3	0.011	0.010

【００６８】

in vivoでの効力の具体例

図１は、ＹＦ－１７Ｄ－２０４に対する人工的に作製された抗体の、マウス感染モデルにおけるin vivoでの効力の具体例を提供する。設計された抗体の効力は、ＡＧ１２９マウスにおける黄熱感染の致死モデルで試験した。抗体の保護効力は、図１に示されている通り、予防についてまたは治療として試験した。

図２に示されている具体例では、抗体の投与は対照群と比較して完全な保護をもたらした（図２Ａ）。抗体の投与はまた、感染後４日および６日において、２Ｌｏｇ１０を超えるウイルス血症の減少をもたらした（図２Ｂ）。

【図１】

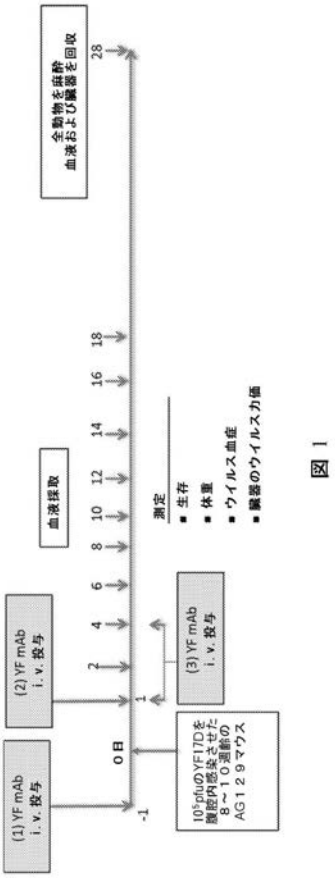

図 1

【図２】

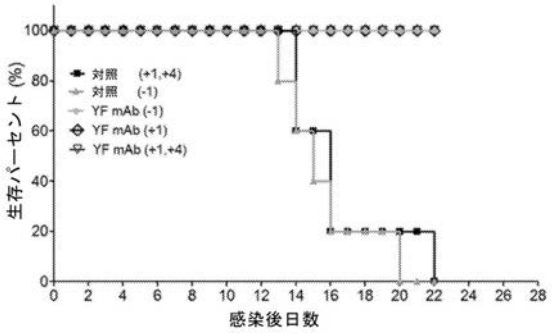

図 2A

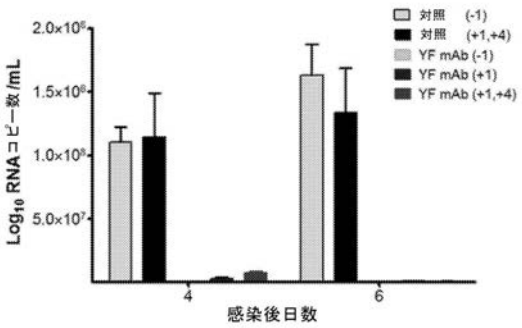

図 2B

【配列表】
2021520854000001.app

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2019/027074

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. A61K39/12 C07K16/10 C07K14/18
ADD.

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)
A61K C07K

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)
EPO-Internal, WPI Data, BIOSIS, EMBASE

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	CN 107 586 335 A (INST MICROBIOLOGY CAS; AMMS CHINA) 16 January 2018 (2018-01-16) whole document esp. seq id no 7, paragraph [5]	1,2,4, 7-21
X	DAFFIS S ET AL: "Antibody responses against wild-type yellow fever virus and the 17D vaccine strain: characterization with human monoclonal antibody fragments and neutralization escape variants", VIROLOGY, ELSEVIER, AMSTERDAM, NL, vol. 337, no. 2, 5 July 2005 (2005-07-05), pages 262-272, XP004930755, ISSN: 0042-6822, DOI: 10.1016/J.VIROL.2005.04.031	1
Y	whole document esp. page 268	2-21

-/--

[X] Further documents are listed in the continuation of Box C. [X] See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
25 June 2019	15/07/2019

Name and mailing address of the ISA/	Authorized officer
European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016	Brück, Marianne

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2019/027074

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	WO 2017/189964 A2 (VOYAGER THERAPEUTICS INC [US]) 2 November 2017 (2017-11-02) whole document esp. paragraphs [702,704]; claim 60; seq id nos 3443,3448,4072,4116	1-21
Y	RYMAN K D ET AL: "Mutation in a 17D-204 Vaccine Substrain-Specific Envelope Protein Epitope Alters the Pathogenesis of Yellow Fever Virus in Mice", VIROLOGY, ELSEVIER, AMSTERDAM, NL, vol. 244, no. 1, 25 April 1998 (1998-04-25), pages 59-65, XP004845013, ISSN: 0042-6822, DOI: 10.1006/VIRO.1998.9057 abstract	1-21

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No
PCT/US2019/027074

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
CN 107586335 A	16-01-2018	NONE	
WO 2017189964 A2	02-11-2017	EP 3448987 A2	06-03-2019
		WO 2017189964 A2	02-11-2017

Form PCT/ISA/210 (patent family annex) (April 2005)

フロントページの続き

(51)Int.Cl.			FI			テーマコード（参考）
Ｃ１２Ｎ	*1/19*	*(2006.01)*	Ｃ１２Ｎ	1/19		
Ｃ１２Ｎ	*1/21*	*(2006.01)*	Ｃ１２Ｎ	1/21		
Ｃ１２Ｎ	*5/10*	*(2006.01)*	Ｃ１２Ｎ	5/10		
Ｃ１２Ｐ	*21/08*	*(2006.01)*	Ｃ１２Ｐ	21/08		
Ａ６１Ｋ	*39/395*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	39/395	Ｎ	
Ａ６１Ｐ	*31/12*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	31/12		

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

(72)発明者　ブディギ，ヤドゥナンダ，クマール
シンガポール共和国　シンガポール　５９７１５１、サンセット　ウェイ　１１９、クレメンティ　パーク　コンドミニアム　＃０３－０１
(72)発明者　チオン，ヨク　ヒアン
シンガポール共和国　シンガポール　４４０００６、マリーン　テラス　６、＃１０－２１０
(72)発明者　リー，デビー　チン　ピン
シンガポール共和国　シンガポール　１２６８１６、ウエスト　コースト　ロード　８０、クレメンティウッズ　０３－２２
(72)発明者　マクビー，メーガン　アーリー
シンガポール共和国　シンガポール　５８９４８９、ドゥナーン　ロード　９６８、０１－２２

Ｆターム(参考)　4B064 AG27 CA02 CA05 CA06 CA08 CA10 CA19 CC24 DA01
4B065 AA01X AA01Y AA57X AA57Y AA72X AA72Y AA83X AA83Y AA90X AA90Y
AB01 AC14 BA02 CA25 CA44
4C085 AA14 AA15 CC23 EE01
4H045 AA10 AA20 AA30 BA41 CA01 DA76 EA20 FA74