(19)日本国特許庁(JP)　(12)特　許　公　報(B2)　(11)特許番号

特許第6106854号
(P6106854)

(45)発行日　平成29年4月5日(2017.4.5)　(24)登録日　平成29年3月17日(2017.3.17)

(51)Int.Cl.		F I		
C12N 15/09	(2006.01)	C12N	15/00	ZNAA
A61K 39/395	(2006.01)	A61K	39/395	U
A61P 1/04	(2006.01)	A61P	1/04	
A61P 1/16	(2006.01)	A61P	1/16	
A61P 3/10	(2006.01)	A61P	3/10	

請求項の数 11　(全 106 頁)　最終頁に続く

(21)出願番号	特願2011-506301 (P2011-506301)
(86)(22)出願日	平成21年4月24日 (2009.4.24)
(65)公表番号	特表2011-523351 (P2011-523351A)
(43)公表日	平成23年8月11日 (2011.8.11)
(86)国際出願番号	PCT/US2009/002536
(87)国際公開番号	WO2009/131702
(87)国際公開日	平成21年10月29日 (2009.10.29)
審査請求日	平成24年4月10日 (2012.4.10)
審判番号	不服2015-2911 (P2015-2911/J1)
審判請求日	平成27年2月16日 (2015.2.16)
(31)優先権主張番号	61/048,152
(32)優先日	平成20年4月25日 (2008.4.25)
(33)優先権主張国	米国(US)
(31)優先権主張番号	61/048,500
(32)優先日	平成20年4月28日 (2008.4.28)
(33)優先権主張国	米国(US)

(73)特許権者　502352519
ダイアックス、コープ
ＤＹＡＸ　ＣＯＲＰ．
アメリカ合衆国マサチューセッツ州０１８０３，バーリントン，ネットワーク・ドライブ　５５
(73)特許権者　510283959
バイオゲン　イデック　ヘモフィリア　インク．
アメリカ合衆国　０２１４２　マサチューセッツ，ケンブリッジ，ケンブリッジ　センター　１４
(74)代理人　100094112
弁理士　岡部　讓

最終頁に続く

(54)【発明の名称】ＦｃＲｎに対する抗体及びその使用

(57)【特許請求の範囲】

【請求項１】

重鎖（ＨＣ）免疫グロブリン可変ドメイン配列及び軽鎖（ＬＣ）免疫グロブリン可変ドメイン配列を含む抗体またはその抗原結合断片であって、

ＨＣ及びＬＣ免疫グロブリン可変ドメイン配列が、ヒトＦｃＲｎに結合する抗原結合部位を形成し；

ＨＣはＥＹＡＭＧ（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１４４）またはＶＹＡＭＧ（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１５６）のアミノ酸配列を有するＨＣ　ＣＤＲｌ，

ＳＩＧＳＳＧＧＱＴＫＹＡＤＳＶＫＧ（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：　１４５）またはＳＩＧＳＳＧＧＰＴＫＹＡＤＳＶＫＧ（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１５７）のアミノ酸配列を有するＨＣ　ＣＤＲ２、及び

ＬＳＩＲＥＬＶ（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１５８），ＬＳＩＶＤＳＹ（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１６４），またはＬＳＬＧＤＳＹ（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１７０）のアミノ酸配列を有するＨＣ　ＣＤＲ３；を有し、

ＬＣは：

ＴＧＴＧＳＤＶＧＳＹＮＬＶＳ（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１４１）のアミノ酸配列を有するＬＣ　ＣＤＲｌ，

ＧＤＳＱＲＰＳ（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１４２）のアミノ酸配列を有するＬＣ　ＣＤＲ２，及び

ＣＳＹＡＧＳＧＩＹＶ（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１４３）のアミノ酸配列を有するＬＣ　Ｃ

ＤＲ３
を有することを特徴とする抗体またはその抗原結合断片。
【請求項２】
ＨＣが（１）ＶＹＡＭＧ（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１５６）のＨＣ　ＣＤＲ１，ＳＩＧＳＳＧＧＰＴＫＹＡＤＳＶＫＧ（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１５７）のＨＣ　ＣＤＲ２，及びＬＳＩＲＥＬＶ（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１５８）のＨＣ　ＣＤＲ３；
（２）ＶＹＡＭＧ（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１５６）のＨＣ　ＣＤＲ１，ＳＩＧＳＳＧＧＰＴＫＹＡＤＳＶＫＧ（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１５７）のＨＣ　ＣＤＲ２，及びＬＳＩＶＤＳＹ（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１６４）のＨＣ　ＣＤＲ３；または
（３）ＥＹＡＭＧ（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１４４）のＨＣ　ＣＤＲ１，ＳＩＧＳＳＧＧＱＴＫＹＡＤＳＶＫＧ（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１４５）のＨＣ　ＣＤＲ２，及びＬＳＬＧＤＳＹ（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１７０）のＨＣ　ＣＤＲ３を有し、
ＬＣがＴＧＴＧＳＤＶＧＳＹＮＬＶＳ（ＳＥＱ　ＩＤＮＯ：１４１）のアミノ酸配列を含むＬＣ　ＣＤＲ１，ＧＤＳＱＲＰＳ（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１４２）のアミノ酸配列を含むＬＣ　ＣＤＲ２，及びＣＳＹＡＧＳＧＩＹＶ（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１４３）のアミノ酸配列を有するＬＣ　ＣＤＲ３を有することを特徴とする請求項１の抗体またはその抗原結合断片。
【請求項３】
請求項１または２のいずれか一項に記載の抗体またはその抗原結合断片と、薬学的に許容できる担体とを含む医薬組成物。
【請求項４】
試料中のＦｃＲｎを検出する方法であって、前記試料を請求項１または２のいずれか一項に記載の抗体またはその抗原結合断片と接触させることと、前記抗体と、存在する場合ＦｃＲｎとの間の相互作用を検出することとを含む方法。
【請求項５】
ＦｃＲｎ活性をｉｎ　ｖｉｔｒｏで調節する方法であって、請求項１または２のいずれか一項に記載の抗体またはその抗原結合断片とＦｃＲｎとを接触させ、それによりＦｃＲｎ活性を調節することを含む方法。
【請求項６】
自己免疫障害の治療及び／又は自己免疫障害の症状の調節に使用するための請求項１または２のいずれか一項に記載の抗体またはその抗原結合断片。
【請求項７】
自己免疫障害が、関節リウマチ（ＲＡ）、全身性エリテマトーデス（ＳＬＥ）、重症筋無力症（ＭＧ）、グレーブス病、特発性血小板減少性紫斑病（ＩＴＰ）、ギランバレー症候群、自己免疫性心筋炎、膜型糸球体腎炎、真性糖尿病、Ｉ型又はＩＩ型糖尿病、多発性硬化症、レイノー症候群、自己免疫性甲状腺炎、胃炎、セリアック病、白斑、肝炎、原発性胆汁性肝硬変、炎症性腸疾患、脊椎関節症、実験的自己免疫性脳脊髄炎、免疫性好中球減少症、若年発症糖尿病、サルコイドーシス、多発性筋炎、多発性動脈炎、皮膚血管炎、天疱瘡、類天疱瘡、グッドパスチャー症候群、川崎病、全身性硬化症、抗リン脂質症候群、及びシェーグレン症候群から成る群から選択される、請求項６の抗体またはその抗原結合断片。
【請求項８】
循環ＩｇＧの半減期／量を調節するのに使用する請求項１または２のいずれかに記載の抗体またはその抗原結合断片。
【請求項９】
個体中の不所望の抗体濃度を低下させるのに使用する請求項１または２のいずれかに記載の抗体またはその抗原結合断片。
【請求項１０】
不所望の抗体がナタリズマブである請求項９の抗体またはその抗原結合断片。
【請求項１１】

請求項１または２のいずれか一項に記載の抗体またはその断片であって、個体におけるＩｇＧのＦｃＲｎへの結合を減少させるために使用する、抗体またはその抗原結合断片。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【０００１】

関連出願

本願は、米国特許法第１１９条（ｅ）に基づいて、２００８年４月２５日出願の米国特許仮出願第６１／０４８，１５２号、及び２００８年４月２８日出願の米国特許仮出願第６１／０４８，５００号の利益を請求し、これらは参照することにより本明細書に全文が組み込まれる。

【背景技術】

【０００２】

血清中最も豊富に存在する抗体アイソタイプはＩｇＧであり、これは病原体に対する保護の仲介、並びに組織、粘膜、及び皮膚表面への免疫系成分の補充を加速させるアレルギー及び炎症反応の仲介において重要な役割を果たしている（Ｊｕｎｇｈａｎｓ，Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｉｃ Ｒｅｓｅａｒｃｈ１６（１）：２９（１９９７））。更にＩｇＧは種々の自己免疫疾患の鍵となる要素でもある。正常条件下では、血清中のＩｇＧの半減期は、マウスの場合５～７日間の範囲、ヒトの場合２２～２３日間の範囲であり、これは他の血漿タンパク質の血清半減期と比べて長い。一部、これは、新生児のＦｃＲｎ受容体（ＦｃＲｎ）が、分解リソソームから飲作用を受けたＩｇＧを救出し、それを再生して細胞外区画に戻すために生じる（Ｊｕｎｇｈａｎｓ ａｎｄ Ａｎｄｅｒｓｏｎ，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ９３：５５１２（１９９６），Ｒｏｏｐｅｎｉａｎ ｅｔ ａｌ．Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ１７０：３５２８（２００３））。

【０００３】

ＦｃＲｎはＩｇＧのＦｃ部分に結合する。ＩｇＧのＦｃ領域とＦｃＲｎとの間の相互作用はｐＨ依存性である。流体相のエンドサイトーシスにより細胞に侵入するとき、ＩｇＧはエンドソームに隔離され、酸性ｐＨ（６～６．５）にて高親和性でＦｃＲｎに結合する；ＩｇＧ－ＦｃＲｎ複合体が細胞膜に循環するとき、ＩｇＧは僅かに塩基性であるｐＨ（～７．４）にて血流中でＦｃＲｎから急速に解離する。この受容体仲介性再生機序により、ＦｃＲｎはリソソームにおける分解からＩｇＧを有効に救出し、それによって循環ＩｇＧの半減期を延長する。

【０００４】

ＦｃＲｎは、典型的には内皮細胞及び上皮細胞のエンドソーム内に存在する非共有ヘテロ二量体である。ＦｃＲｎは、３つの重鎖αドメイン（α１、α２、及びα３）及び１つの可溶性軽鎖β２－マイクログロブリン（β２Ｍ）ドメインを有する１回膜貫通型膜結合受容体である。構造的にＦｃＲｎは、一般的な軽鎖としてβ２Ｍを有する主な組織適合性複合体クラスＩ分子のファミリーに属する。ＦｃＲｎのα鎖は、α１、α２、及びα３重鎖ドメインを含む細胞外ドメイン、膜貫通領域、及び比較的短い細胞質側末端から構成される４６ｋＤのタンパク質である（Ｂｕｒｍｅｉｓｔｅｒ ｅｔ ａｌ．Ｎａｔｕｒｅ ３７２：３６６（１９９４））。

【０００５】

ＦｃＲｎは、新生児ラットの腸で最初に同定され、そこではＦｃＲｎは母乳由来のＩｇＧ抗体の吸収を仲介し、循環系への輸送を促進するよう機能していた（Ｌｅａｃｈ ｅｔ ａｌ．Ｊ Ｉｍｍｕｎｏｌ １５７：３３１７（１９９６））。ＦｃＲｎはまたヒト胎盤からも単離されており、そこでも母親のＩｇＧの胎児循環への吸収及び輸送を仲介している。成人ではＦｃＲｎは多数の組織で発現しており、例えばその組織には、肺、腸、腎臓の上皮組織、並びに鼻、膣、及び胆管（ｂｉｌｉａｒｙ ｔｒｅｓｓ）表面が挙げられる（米国特許第６，０３０，６１３号及び同第６，０８６，８７５号；Ｉｓｒａｅｌ ｅｔ ａｌ．Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ ９２：６９（１９９７）；Ｋｏｂａｙａｓｈｉ ｅｔ ａｌ．Ａｍ Ｊ Ｐｈｙｓｉｏｌ（２００２）；Ｒｅｎａｌ Ｐｈｙｓｉｏｌ ２８２

：Ｆ３５８（２００２））。
【０００６】
ＦｃＲｎのＩｇＧホメオスタシスへの寄与を研究するために、β２Ｍ及びＦｃＲｎ重鎖をコードする遺伝子の少なくとも一部が「ノックアウト」され、その結果これらのタンパク質が発現しなくなるようマウスが作製されている（国際公開第０２／４３６５８号；Ｊｕｎｇｈａｎｓ ａｎｄ Ａｎｄｅｒｓｏｎ，Ｐｒｏｃ Ｎａｔｌ Ａｃａｄ Ｓｃｉ ＵＳ ９３：５５１２（１９９６））。これらのマウスでは、ＩｇＧの血清半減期及び濃度が劇的に減少し、これはＩｇＧホメオスタシスがＦｃＲｎ依存性機序であることを示唆する。
【０００７】
抗ヒトＦｃＲｎ抗体をこれらＦｃＲｎノックアウトマウスで産生し得る可能性があり、これら抗体はＩｇＧのＦｃＲｎへの結合を阻止する可能性があることも示唆されている。しかし、かかる抗体は産生されていない、又は試験されていない（国際公開第０２／４３６５８号）。
【０００８】
ＩｇＧのＦｃＲｎへの結合阻害は、ＩｇＧ再生を阻止することによりＩｇＧ血清半減期を負の方向に変化させる。この原理は、自己免疫皮膚水疱性疾患のマウスモデルにおいて治療的に有効であることが示されている（Ｌｉ ｅｔ ａｌ．Ｊ Ｃｌｉｎ Ｉｎｖｅｓｔ １１５：３４４０－３４５０（２００５））。従って、ＩｇＧのＦｃＲｎへの結合をブロックする又は拮抗する剤を、自己免疫疾患及び炎症性疾患、又は不適切に制御されているＩｇＧ抗体の存在を特徴とする障害を治療又は予防する方法で用いることができる。
【発明の概要】
【発明が解決しようとする課題】
【０００９】
本発明は、特に、ＦｃＲｎに結合する抗体、並びにかかる抗体の同定及び使用方法に関する。
【課題を解決するための手段】
【００１０】
１つの態様では、本発明は、重鎖（ＨＣ）免疫グロブリン可変ドメイン配列及び軽鎖（ＬＣ）免疫グロブリン可変ドメイン配列を含む単離抗体であって、
前記重鎖及び軽鎖免疫グロブリン可変ドメイン配列が、ヒトＦｃＲｎに結合する抗原結合部位を形成し；前記抗体が以下の特徴のうちの１つ以上を有する単離抗体を提供する：

（ａ）ヒトＣＤＲ又はヒトフレームワーク領域；
（ｂ）ＬＣ免疫グロブリン可変ドメイン配列が、 Ｍ０１７１－Ａ０３、Ｍ０１７１－Ａ０１、Ｍ０１５９－Ａ０７、Ｍ０１６１－Ｂ０４、Ｍ００９０－Ｆ１１、又はＤＸ２５００のＬＣ可変ドメインのＣＤＲに対して少なくとも８５％同一である１つ以上のＣＤＲを含む；
（ｃ）ＨＣ免疫グロブリン可変ドメイン配列が、 Ｍ０１７１－Ａ０３、Ｍ０１７１－Ａ０１、Ｍ０１５９－Ａ０７、Ｍ０１６１－Ｂ０４、Ｍ００９０－Ｆ１１、又はＤＸ２５００のＨＣ可変ドメインのＣＤＲに対して少なくとも８５％同一である１つ以上のＣＤＲを含む；
（ｄ）ＬＣ免疫グロブリン可変ドメイン配列が、Ｍ０１７１－Ａ０３、Ｍ０１７１－Ａ０１、Ｍ０１５９－Ａ０７、Ｍ０１６１－Ｂ０４、Ｍ００９０－Ｆ１１、又はＤＸ２５００のＬＣ可変ドメインと少なくとも８５％同一である；
（ｅ）ＨＣ免疫グロブリン可変ドメイン配列が、Ｍ０１７１－Ａ０３、Ｍ０１７１－Ａ０１、Ｍ０１５９－Ａ０７、Ｍ０１６１－Ｂ０４、Ｍ００９０－Ｆ１１、又はＤＸ２５００のＨＣ可変ドメインと少なくとも８５％同一である；及び
（ｆ）抗体が、Ｍ０１７１－Ａ０３、Ｍ０１７１－Ａ０１、Ｍ０１５９－Ａ０７、Ｍ０１６１－Ｂ０４、Ｍ００９０－Ｆ１１、又はＤＸ２５００の結合するエピトープと重複する

エピトープに結合する。
【００１１】
１つの態様では、本発明は、Ｍ０１７１－Ａ０３、Ｍ０１７１－Ａ０１、Ｍ０１５９－Ａ０７、Ｍ０１６１－Ｂ０４、Ｍ００９０－Ｆ１１、及びＤＸ２５００から成る群から選択される抗体と少なくとも８５％同一である単離抗体を提供する。
【００１２】
１つの態様では、本発明は、Ｍ０１７１－Ａ０３、Ｍ０１７１－Ａ０１、Ｍ０１５９－Ａ０７、Ｍ０１６１－Ｂ０４、Ｍ００９０－Ｆ１１、及びＤＸ２５０４から成る群から選択される単離抗体を提供する。
【００１３】
１つの態様では、本発明は、Ｍ０１６１－Ｂ０４のＣＤＲを含む単離抗体を提供する。１つの態様では、本発明はＭ０１６１－Ｂ０４と少なくとも８５％同一である単離抗体を提供する。Ｍ０１６１－Ｂ０４のＣＤＲを表１７Ａに示す。
【００１４】
１つの態様では、本発明はＭ０１７１－Ａ０３のＣＤＲを含む単離抗体を提供する。１つの態様では、本発明はＭ０１７１－Ａ０３と少なくとも８５％同一である単離抗体を提供する。Ｍ０１７１－Ａ０３のＣＤＲを表１７Ａに示す。
【００１５】
１つの態様では、本発明はＭ０１７１－Ａ０１のＣＤＲを含む単離抗体を提供する。１つの態様では、本発明はＭ０１７１－Ａ０１と少なくとも８５％同一である単離抗体を提供する。Ｍ０１７１－Ａ０１のＣＤＲを表１７Ａに示す。
【００１６】
１つの態様では、本発明はＭ０１５９－Ａ０７のＣＤＲを含む単離抗体を提供する。１つの態様では、本発明はＭ０１５９－Ａ０７と少なくとも８５％同一である単離抗体を提供する。Ｍ０１５９－Ａ０７のＣＤＲを表１７Ａに示す。
【００１７】
１つの態様では、本発明はＭ００９０－Ｆ１１のＣＤＲを含む単離抗体を提供する。１つの態様では、本発明は、Ｍ００９０－Ｆ１１と少なくとも８５％同一である単離抗体を提供する。Ｍ００９０－Ｆ１１のＣＤＲを表１７Ａに示す。
【００１８】
１つの態様では、本発明はＤＸ－２５００のＣＤＲを含む単離抗体を提供する。１つの態様では、ＤＸ－２５００と少なくとも８５％同一である単離抗体を提供する。ＤＸ－２５００のＣＤＲを表１７Ａに示す。
【００１９】
本明細書に提供される抗体の幾つかの実施形態では、ＨＣ可変ドメイン配列はＭ０１６１－Ｂ０４の可変ドメイン配列を含み、ＬＣ可変ドメイン配列はＭ０１６１－Ｂ０４の可変ドメイン配列を含む。
【００２０】
本明細書に提供される抗体の幾つかの実施形態では、ＨＣ可変ドメイン配列はＭ０１７１－Ａ０３の可変ドメイン配列を含み、ＬＣ可変ドメイン配列はＭ０１７１－Ａ０３の可変ドメイン配列を含む。
【００２１】
本明細書に提供される抗体の幾つかの実施形態では、ＨＣ可変ドメイン配列はＭ０１７１－Ａ０１の可変ドメイン配列を含み、ＬＣ可変ドメイン配列はＭ０１７１－Ａ０１の可変ドメイン配列を含む。
【００２２】
本明細書に提供される抗体の幾つかの実施形態では、ＨＣ可変ドメイン配列はＭ０１５９－Ａ０７の可変ドメイン配列を含み、ＬＣ可変ドメイン配列はＭ０１５９－Ａ０７の可変ドメイン配列を含む。
【００２３】

本明細書に提供される抗体の幾つかの実施形態では、ＨＣ可変ドメイン配列はＭ００９０－Ｆ１１の可変ドメイン配列を含み、ＬＣ可変ドメイン配列はＭ００９０－Ｆ１１の可変ドメイン配列を含む。

【００２４】

本明細書に提供される抗体の幾つかの実施形態では、ＨＣ可変ドメイン配列は、ＤＸ２５００の可変ドメイン配列を含み、ＤＸ２５００のＬＣ可変ドメイン配列は、ＤＸ２５００の可変ドメイン配列を含む。

【００２５】

本明細書に提供される抗体の幾つかの実施形態では、前記抗体は、Ｍ０１７１－Ａ０３、Ｍ０１７１－Ａ０１、Ｍ０１５９－Ａ０７、Ｍ０１６１－Ｂ０４、Ｍ００９０－Ｆ１１、又はＤＸ２５００の結合するＦｃＲｎエピトープに結合する。

【００２６】

本明細書に提供される抗体の幾つかの実施形態では、前記抗体は、ＦｃＲｎへの結合について、Ｍ０１７１－Ａ０３、Ｍ０１７１　Ａ０１、Ｍ０１５９－Ａ０７、Ｍ０１６１－Ｂ０４、Ｍ００９０－Ｆ１１、又はＤＸ２５００と競合する。

【００２７】

本明細書で使用されるとき、Ｍ０１７１－Ａ０３はまたＭ１７１－Ａ０３及びＭ００１７１－Ａ０３とも称される。本明細書で使用されるとき、Ｍ０１７１－Ａ０１はまたＭ１７１－Ａ０１及びＭ００１７１－Ａ０１とも称される。本明細書で使用されるとき、Ｍ０１５９－Ａ０７はまたＭ１５９－Ａ０７及びＭ００１５９－Ａ０７とも称される。本明細書で使用されるとき、Ｍ０１６１－Ｂ０４はまたＭ１６１－Ｂ０４、Ｍ００１６１－Ｂ０４、及びＤＸ－２５０４とも称される。本明細書で使用されるとき、Ｍ００９０－Ｆ１１はまたＭ０９０－Ｆ１１及びＭ９０－Ｆ１１とも称される。

【００２８】

１つの態様では、本発明は、ヒトＦｃＲｎに結合する単離抗体又はその断片であって、前記抗体がヒトＦｃＲｎの重鎖又はその断片に対して産生され、前記抗体がＩｇＧのヒトＦｃＲｎへの結合の非競合的阻害剤として機能し、前記抗体がβ２－マイクログロブリンに結合しない、単離抗体又はその断片を提供する。

【００２９】

１つの態様では、本発明は、ヒトＦｃＲｎに結合する単離抗体又はその断片であって、前記抗体がヒトＦｃＲｎの重鎖又はその断片に対して産生され、前記抗体がＦｃＲｎと複合体化していないときβ２－マイクログロブリンに結合せず、前記抗体がＦｃＲｎ－／－ノックアウトマウスから産生されない、単離抗体又はその断片を提供する。

【００３０】

本明細書に提供される抗体の幾つかの実施形態では、前記抗体は、３Ｂ３．１１、３１．１、４Ｂ４．１２、及び１７Ｄ３から成る群から選択される。

【００３１】

本明細書に提供される抗体の幾つかの実施形態では、前記抗体は、１００ｎＭ未満の解離定数（K_D）でｐＨ５～７．４の範囲にてヒトＦｃＲｎに結合する。

【００３２】

本明細書に提供される抗体の幾つかの実施形態では、前記抗原結合部位は、ヒトＦｃＲｎに特異的に結合する。

【００３３】

本明細書に提供される抗体の幾つかの実施形態では、前記抗体は、安定なＦｃＲｎ発現細胞株に結合する。

【００３４】

本明細書に提供される抗体の幾つかの実施形態では、前記抗体は、抗体／免疫グロブリン定常領域へのＦｃＲｎの結合を調節する（例えば阻害する）。

【００３５】

本明細書に提供される抗体の幾つかの実施形態では、前記抗体は、ＦｃＲｎのαサブユ

ニットに結合する。
【００３６】
本明細書に提供される抗体の幾つかの実施形態では、前記抗体は、ＦｃＲｎα鎖のα１、α２、又はα３ドメインに結合する。
【００３７】
本明細書に提供される抗体の幾つかの実施形態では、前記抗体は、ＦｃＲｎのβサブユニットに結合しない、即ちそのタンパク質は、αサブユニットにのみ結合する。
【００３８】
本明細書に提供される抗体の幾つかの実施形態では、前記抗体は、ＦｃＲｎのβサブユニットに結合し、前記βサブユニットはαサブユニットに会合している。
【００３９】
本明細書に提供される抗体の幾つかの実施形態では、前記αサブユニット及びβサブユニットは、ＦｃＲｎに正確に組み立てられる。
【００４０】
本明細書に提供される抗体の幾つかの実施形態では、前記抗体は、αサブユニット及びβサブユニットの両方を含み、正確に組み立てられているＦｃＲｎに結合する。
【００４１】
本明細書に提供される抗体の幾つかの実施形態では、前記抗体は、ｐＨ６にて、約８００ｎＭ未満、約６００ｎＭ未満、約３００ｎＭ未満、約１００ｎＭ未満、約５０ｎＭ未満、約２５ｎＭ未満、約１０ｎＭ未満、又は約５ｎＭ未満のIC_{50}で、ＩｇＧ－Ｆｃの結合を阻害する。
【００４２】
本明細書に提供される抗体の幾つかの実施形態では、前記抗体は可溶性Ｆａｂである。
【００４３】
本明細書に提供される抗体の幾つかの実施形態では、前記抗体は、その抗原結合ドメインを通して結合し、さらにそのＦｃドメインを通してでもＦｃＲｎに結合する。
【００４４】
本明細書に提供される抗体の幾つかの実施形態では、前記抗体のＦｃＲｎへの結合は、２～１０の範囲で実質的にｐＨ依存性である。
【００４５】
本明細書に提供される抗体の幾つかの実施形態では、前記抗体のＦｃＲｎへの結合は、６～８の範囲で実質的にｐＨ依存性である。
【００４６】
本明細書に提供される抗体の幾つかの実施形態では、前記抗体は、ｐＨ７．５で０．０１、０．００１、０．０００１、０．００００１s^{-1}未満のk_{off}を有する。
【００４７】
本明細書に提供される抗体の幾つかの実施形態では、前記抗体のＦｃＲｎへの結合は、実質的にｐＨ依存性である。
【００４８】
本明細書に提供される抗体の幾つかの実施形態では、前記抗体は、ｐＨに依存して、又はｐＨに依存せず、ラットＦｃＲｎと比べてヒトＦｃＲｎに優先的に結合する。
【００４９】
本明細書に提供される抗体の幾つかの実施形態では、前記抗体は、エンドソーム内又はエンドソーム条件下でＦｃＲｎに結合する。
【００５０】
本明細書に提供される抗体の幾つかの実施形態では、前記抗体は、ｐＨ７．５ではＦｃＲｎを解放しない。
【００５１】
本明細書に提供される抗体の幾つかの実施形態では、前記抗体は、対象に投与されたとき、自己免疫障害に関連する症状を寛解させる。

【００５２】
本明細書に提供される抗体の幾つかの実施形態では、前記ＨＣ及びＬＣ可変ドメイン配列は、同じポリペプチド鎖の構成要素である。
【００５３】
本明細書に提供される抗体の幾つかの実施形態では、前記ＨＣ及びＬＣ可変ドメイン配列は、異なるポリペプチド鎖の構成要素である。
【００５４】
本明細書に提供される抗体の幾つかの実施形態では、前記抗体は完全長抗体である。
【００５５】
本明細書に提供される抗体の幾つかの実施形態では、前記抗体は、ヒト抗体若しくはヒト化抗体である、又はヒトにおいて非免疫原性である。
【００５６】
本明細書に提供される抗体の幾つかの実施形態では、前記抗体は、ヒト抗体フレームワーク領域を含む。
【００５７】
本明細書に提供される抗体の幾つかの実施形態では、前記抗体はＦｃドメインを含む。
【００５８】
本明細書に提供される抗体の幾つかの実施形態では、前記抗体はマウス抗体である。
【００５９】
本明細書に提供される抗体の幾つかの実施形態では、前記抗体は、モノクローナル抗体である。
【００６０】
本明細書に提供される抗体の幾つかの実施形態では、前記抗体はキメラである又はヒト化されている。
【００６１】
本明細書に提供される抗体の幾つかの実施形態では、前記抗体は、Ｆａｂ、Ｆ（ａｂ）’２、Ｆｖ、及びＳｃＦｖから成る群から選択される。
【００６２】
本明細書に提供される抗体の幾つかの実施形態では、ＦｃＲｎに結合する前記抗体は、６．０～８．０のｐＨ範囲にわたってｐＨ非依存性である。
【００６３】
１つの態様では、本発明は、本明細書に提供される抗体のうち任意の１種と、薬学的に許容できる担体とを含む医薬組成物を提供する。
【００６４】
１つの態様では、本発明は、Ｍ０１７１－Ａ０３、Ｍ０１７１－Ａ０１、Ｍ０１５９－Ａ０７、又はＭ０１６１－Ｂ０４の可変ドメインの配列と少なくとも８０％同一である配列を含むポリペプチドをコードする配列を含む単離核酸を提供する。
【００６５】
１つの態様では、本発明は、本明細書に提供される抗体のうち任意の１種の第１及び／又は第２の免疫グロブリン可変ドメインを含むポリペプチドをコードする配列を含む単離核酸を提供する。
【００６６】
１つの態様では、本発明は、本明細書に提供される核酸配列を含むベクター又は宿主細胞を提供する。
【００６７】
１つの態様では、本発明は、試料中のＦｃＲｎを検出する方法であって、前記試料を本明細書に提供される抗体のうち任意の１種と接触させることと、前記抗体と（存在する場合）ＦｃＲｎとの間の相互作用を検出することとを含む方法を提供する。幾つかの実施形態では、前記抗体は、検出可能な標識を更に含む。
【００６８】

１つの態様では、本発明は、対象中のＦｃＲｎを検出する方法であって、検出可能な標識を更に含む本明細書に提供される抗体のうち任意の１種を対象に投与することと、対象中の標識を検出することとを含む方法を提供する。幾つかの実施形態では、検出は対象の画像化を含む。

【００６９】

１つの態様では、本発明は、ＦｃＲｎ活性を調節する方法であって、ＦｃＲｎを本明細書に提供される抗体のうち任意の１種と接触させ、それによってＦｃＲｎの活性を調節することを含む方法を提供する。幾つかの実施形態では、ＦｃＲｎはヒト対象中に存在する。幾つかの実施形態では、前記抗体は、ＦｃＲｎの内因性ＩｇへのＦｃ結合を阻止する。幾つかの実施形態では、前記抗体は、ＦｃＲｎの治療抗体へのＦｃ結合を阻止する。幾つかの実施形態では、ＦｃＲｎは上皮細胞エンドソームに存在する。幾つかの実施形態では、ＦｃＲｎは内皮細胞エンドソーム内に存在する。幾つかの実施形態では、ＦｃＲｎは細胞表面上に存在する。

【００７０】

１つの態様では、本発明は、自己免疫障害を治療する及び／又は自己免疫障害の症状を調節する方法であって、症状を調節するのに十分な量の本明細書に提供される抗体のうち任意の１種を投与することを含む方法を提供する。幾つかの実施形態では、自己免疫障害は、関節リウマチ（ＲＡ）、全身性エリテマトーデス（ＳＬＥ）、重症筋無力症（ＭＧ）、グレーブス病、特発性血小板減少性紫斑病（ＩＴＰ）、ギランバレー症候群、自己免疫性心筋炎、膜型糸球体腎炎、真性糖尿病、Ｉ型又はＩＩ型糖尿病、多発性硬化症、レイノー症候群、自己免疫性甲状腺炎、胃炎、セリアック病、白斑、肝炎、原発性胆汁性肝硬変、炎症性腸疾患、脊椎関節症、実験的自己免疫性脳脊髄炎、免疫性好中球減少症、若年発症糖尿病、及びサイトカイン仲介性遅延型過敏症に関連する免疫反応、典型的には結核で見られるＴリンパ球、サルコイドーシス、及び多発性筋炎、多発性動脈炎、皮膚血管炎、天疱瘡、類天疱瘡、グッドパスチャー症候群、川崎病、全身性硬化症、抗リン脂質症候群、及びシェーグレン症候群から成る群から選択される障害である。幾つかの実施形態では、天疱瘡は、尋常性天疱瘡、落葉状天疱瘡、又は腫瘍随伴性天疱瘡である。

【００７１】

幾つかの実施形態では、前記抗体は、内因性ＩｇＧの半減期を短縮する。

【００７２】

１つの態様では、本発明は、循環ＩｇＧの半減期／量を調節する方法であって、循環ＩｇＧの半減期／量を調節する必要のある対象を特定することと、対象中の循環ＩｇＧの半減期／量の調節に有効な量の本明細書に提供される抗体のうち任意の１種の抗体を対象に投与することと、を含む方法を提供する。幾つかの実施形態では、前記方法は、循環ＩｇＧの半減期／量を減少させる。幾つかの実施形態では、対象はヒトである。幾つかの実施形態では、前記抗体は、循環ＩｇＧの半減期／量を減少させるために、本明細書に提供される抗体のうちのいずれでもない抗自己免疫障害剤又は療法と組み合わせて投与される。幾つかの実施形態では、本明細書に提供される抗体のうちのいずれでもない抗自己免疫障害剤又は療法は、静脈内Ｉｇ療法；非ステロイド性抗炎症薬（ＮＳＡＩＤ）；コルチコステロイド；シクロスポリン、ラパマイシン、アスコマイシン、又はこれらの免疫抑制類似体、例えばシクロスポリンＡ、シクロスポリンＧ、ＦＫ－５０６、ラパマイシン、４０－Ｏ－（２－ヒドロキシ）エチル－ラパマイシン；シクロホスファミド；アザチオプリン；メトトレキサート；ブレキナル；ＦＴＹ７２０；レフルノミド；ミゾリビン；ミコフェノール酸；ミコフェノール酸モフェチル；１５－デオキシスペルグアリン；免疫抑制モノクローナル抗体、例えば白血球受容体に対するモノクローナル抗体、例えば、ＭＨＣ、ＣＤ２、ＣＤ３、ＣＤ４、ＣＤ７、ＣＤ２５、ＣＤ２８、Ｂ７、ＣＤ４５、若しくはＣＤ５８、又はこれらのリガンド；他の免疫調節化合物、例えばＣＴＬＡ４Ｉｇ；又は他の接着分子阻害剤、例えば、ｍＡｂ、又はセレクチン拮抗剤及びＶＬＡ－４拮抗剤を含む低分子量阻害剤を含む。

【００７３】

１つの態様では、本発明は、自己免疫障害を治療又は予防する方法であって、本明細書に提供される抗体のうち任意の１種を、前記障害に罹患している又は前記障害を発現するリスクを有する対象に投与することを含む方法を提供する。幾つかの実施形態では、自己免疫障害は、不所望の循環ＩｇＧを特徴とする。幾つかの実施形態では、前記抗体は、内因性ＩｇＧの半減期を短縮する。幾つかの実施形態では、自己免疫障害は、関節リウマチ（ＲＡ）、全身性エリテマトーデス（ＳＬＥ）、重症筋無力症（ＭＧ）、グレーブス病、特発性血小板減少性紫斑病（ＩＴＰ）、ギランバレー症候群、自己免疫性心筋炎、膜型糸球体腎炎、真性糖尿病、Ｉ型又はＩＩ型糖尿病、多発性硬化症、レイノー症候群、自己免疫性甲状腺炎、胃炎、セリアック病、白斑、肝炎、原発性胆汁性肝硬変、炎症性腸疾患、脊椎関節症、実験的自己免疫性脳脊髄炎、免疫性好中球減少症、若年発症糖尿病、及びサイトカイン仲介性遅延型過敏症に関連する免疫反応、典型的には結核で見られるＴリンパ球、サルコイドーシス、及び多発性筋炎、多発性動脈炎、皮膚血管炎、天疱瘡、類天疱瘡、グッドパスチャー症候群、川崎病、全身性硬化症、抗リン脂質症候群、及びシェーグレン症候群から選択される障害である。幾つかの実施形態では、天疱瘡は、尋常性天疱瘡，落葉状天疱瘡、又は腫瘍随伴性天疱瘡である。

【００７４】

１つの態様では、本発明は、自己免疫障害を治療又は予防する方法であって、前記方法は、本明細書に提供される抗体のうち任意の１種を、前記障害を治療又は予防するための第２の療法と組み合わせて、前記障害に罹患している又は前記障害を発現するリスクを有する対象に投与することを含む方法を提供する。幾つかの実施形態では、第２の療法は、静脈内Ｉｇ療法；非ステロイド性抗炎症薬（ＮＳＡＩＤ）；コルチコステロイド；シクロスポリン、ラパマイシン、アスコマイシン、又はこれらの免疫抑制類似体、例えばシクロスポリンＡ、シクロスポリンＧ、ＦＫ－５０６、ラパマイシン、４０－Ｏ－（２－ヒドロキシ）エチル－ラパマイシン；シクロホスファミド；アザチオプリン；メトトレキサート；ブレキナル；ＦＴＹ７２０；レフルノミド；ミゾリビン；ミコフェノール酸；ミコフェノール酸モフェチル；１５－デオキシスペルグアリン；免疫抑制モノクローナル抗体、例えば白血球受容体に対するモノクローナル抗体、例えばＭＨＣ、ＣＤ２、ＣＤ３、ＣＤ４、ＣＤ７、ＣＤ２５、ＣＤ２８、Ｂ７、ＣＤ４５、若しくはＣＤ５８、又はこれらのリガンド；他の免疫調節化合物、例えばＣＴＬＡ４Ｉｇ；又は他の接着分子阻害剤、例えば、ｍＡｂ、又はセレクチン拮抗剤及びＶＬＡ－４拮抗剤を含む低分子量阻害剤を含む。

【００７５】

１つの態様では、本発明は、個体中の不所望の抗体濃度を低下させる方法であって、治療有効量の本明細書に提供される抗体又はその断片のうち任意の１種を個体に投与する工程を含む方法を提供する。幾つかの実施形態では、前記抗体又はその断片は、薬学的に許容できる担体内で投与される。幾つかの実施形態では、個体はヒトである。

【００７６】

幾つかの実施形態では、前記抗体又はその断片はアジュバントと共に投与される。幾つかの実施形態では、前記不所望の抗体はナタリズマブである。幾つかの実施形態では、前記不所望の抗体は非自己ヒト白血球抗原である。幾つかの実施形態では、投与される抗体又はその断片は、臓器移植に関連して投与される。

【００７７】

１つの態様では、本発明は、個体におけるＩｇＧのＦｃＲｎへの結合を低減する方法であって、ヒトＦｃＲｎに結合し、ヒトＦｃＲｎ又はその断片の重鎖に対して産生され、ＩｇＧのヒトＦｃＲｎへの結合の非競合的阻害剤であり、β２－マイクログロブリンに結合しない抗体又はその断片を提供する工程と、個体におけるＩｇＧのＦｃＲｎへの結合を低減するのに十分な量の前記抗体又はその断片を個体に投与する工程と、を含む方法を提供する。幾つかの実施形態では、前記個体は自己免疫疾患又は同種免疫疾患に罹患している。幾つかの実施形態では、前記個体は臓器移植のレシピエントである。幾つかの実施形態では、前記個体は治療抗体の投与を受けたことがある。幾つかの実施形態では、前記自己免疫疾患は免疫性血小板減少症である。幾つかの実施形態では、前記自己免疫疾患は免疫

性天疱瘡である。幾つかの実施形態では、前記個体はヒトである。幾つかの実施形態では、前記抗体は、１ｍｇ／ｋｇ～２ｇ／ｋｇの投与量で投与される。幾つかの実施形態では、前記抗体は、１ｍｇ／ｋｇ～２００ｍｇ／ｋｇの投与量で投与される。

【００７８】

１つの態様では、本発明は、個体中のＩｇＧ抗体の量を抑制する方法であって、ヒトＦｃＲｎに結合し、ヒトＦｃＲｎ又はその断片の重鎖に対して産生され、ＩｇＧのヒトＦｃＲｎへの結合の非競合的阻害剤であり、β２－マイクログロブリンに結合しない抗体又はその断片を提供する工程と、個体中のＩｇＧ抗体の量を抑制するのに十分な量の前記抗体又はその断片を個体に投与する工程とを含む方法を提供する。幾つかの実施形態では、前記ＩｇＧ抗体は治療ＩｇＧ抗体である。幾つかの実施形態では、治療ＩｇＧ抗体はナタリズマブである。幾つかの実施形態では、前記ＩｇＧ抗体は非自己ヒト白血球抗原である。幾つかの実施形態では、前記方法は血漿交換工程を更に含む。

【００７９】

１つの態様では、本発明は、ＩｇＧ分子の定常領域がＦｃＲｎに結合するのを阻害する抗体に関する。従って本発明は、ＦｃＲｎ分子のエピトープに特異的に結合する少なくとも１つの可変領域を含む抗体に関する。幾つかの実施形態では、本発明の抗体は、ヒトＦｃＲｎに結合する。他の実施形態では、前記抗体はげっ歯類又はサルＦｃＲｎに結合する。本発明の幾つかの例示的抗体としては、例えば４Ｂ４．１２、３Ｂ３．１１、３１．１、及び１７Ｄ３が挙げられる。

【００８０】

１つの態様では、本開示は、重鎖（ＨＣ）免疫グロブリン可変ドメイン配列及び軽鎖（ＬＣ）免疫グロブリン可変ドメイン配列を含む抗体（例えば単離抗体）を特徴とする。第１及び第２の免疫グロブリン可変ドメイン配列は、ＦｃＲｎ（例えばヒトＦｃＲｎ）に結合する抗原結合部位を形成する。１つの実施形態では、前記抗体は、以下の特徴のうちの１つ以上を有する:

（ａ）ＬＣ免疫グロブリン可変ドメイン配列は、３Ｂ３．１１、３１．１、５３２Ａ－Ｍ００９０－Ｆ０９、Ｍ００８４－Ｂ０３、Ｍ００５６－Ｇ０５、Ｍ００８４－Ｂ１１、Ｍ００９２－Ｄ０２、Ｍ００５５－Ｇ１２、Ｍ００５７－Ｆ０２、Ｍ００６２－Ｃ０９、Ｍ００６４－Ｈ０４、Ｍ００７３－Ｅ１０、又はＭ００９０－Ｆ１１のＬＣ可変ドメイン、又はこれらの１つ以上のＣＤＲと少なくとも８５％同一である；
（ｂ）ＨＣ免疫グロブリン可変ドメイン配列は、３Ｂ３．１１、３１．１、５３２Ａ－Ｍ００９０－Ｆ０９、Ｍ００８４－Ｂ０３、Ｍ００５６－Ｇ０５、Ｍ００８４－Ｂ１１、Ｍ００９２－Ｄ０２、Ｍ００５５－Ｇ１２、Ｍ００５７－Ｆ０２、Ｍ００６２－Ｃ０９、Ｍ００６４－Ｈ０４、Ｍ００７３－Ｅ１０、又はＭ００９０－Ｆ１１のＨＣ可変ドメイン、又はこれらの１つ以上のＣＤＲと少なくとも８５％同一である；及び
（ｃ）前記抗体は、３Ｂ３．１１、３１．１、５３２Ａ－Ｍ００９０－Ｆ０９、Ｍ００８４－Ｂ０３、Ｍ００５６－Ｇ０５、Ｍ００８４－Ｂ１１、Ｍ００９２－Ｄ０２、Ｍ００５５－Ｇ１２、Ｍ００５７－Ｆ０２、Ｍ００６２－Ｃ０９、Ｍ００６４－Ｈ０４、Ｍ００７３－Ｅ１０、又はＭ００９０－Ｆ１１の結合するエピトープと重複するエピトープに結合する。

【００８１】

１つの実施形態では、前記抗体は、例えば約５～８のｐＨ範囲にて、例えば１００、２０、１０、５、１、又は０．１ｎＭ未満の解離定数（K_D）で、ＦｃＲｎ（例えばヒトＦｃＲｎ）に結合する。１つの実施形態では、前記抗原結合部位はヒトＦｃＲｎに特異的に結合する。本明細書で使用されるとき、「特異的結合」又は「特異的に結合する」は、ＦｃＲｎ以外の非特異的抗原（例えばアクチン、カゼイン）に結合する親和性よりも、少なくとも２倍、１０倍、５０倍、１００倍、又はそれ以上の親和性で（小さなK_Dで）、ヒトＦｃＲｎに優先的に結合する、ＦｃＲｎ結合抗体の能力を指す。１つの実施形態では、前記抗体は、０．０１、０．００１、０．０００１、０．００００１s^{-1}未満のk_{off}

$_f$でヒトＦｃＲｎに結合する。

【００８２】

１つの実施形態では、前記抗体は、ＦｃＲｎの細胞外ドメイン；例えばＦｃＲｎのαサブユニットの１つ、即ちＦｃＲｎα鎖のα１、α２、又はα３ドメインに結合する。１つの実施形態では、前記抗体は、ＦｃＲｎのβ（β２Ｍ）サブユニットには結合せず、例えば前記抗体はαサブユニットにのみ結合する。１つの実施形態では、前記抗体は、ＦｃＲｎのβサブユニットに結合はするが、β２Ｍがαサブユニットに会合しているときのみである。例えば、前記抗体は、両方が存在し、ＦｃＲｎに正確に組み立てられる場合を除いて、αサブユニット又はβサブユニットのいずれにも結合しない。１つの実施形態では、前記抗体は、αサブユニット及びβサブユニットの両方を含み、正確に組み立てられるＦｃＲｎに結合する。

【００８３】

１つの実施形態では、前記抗体は、ＦｃＲｎの抗体／免疫グロブリン定常領域への結合を調節する（例えば阻害する）。例えば前記抗体は、５ｎＭ、５００ｐＭ、２００ｐＭ、１５０ｐＭ、１００ｐＭ、又は７５ｐＭより優れた（例えば数値的には小さい）K_i、例えば５０ｎＭ～１ｐＭ、又は２００ｐＭ～５ｐＭのK_iを有し得る。

【００８４】

１つの実施形態では、前記抗体は、ＦｃＲｎに結合し、ＦｃＲｎの抗体／免疫グロブリン定常領域への結合を減少させる若しくは阻止する。例えば、前記抗体は、1×10^{-8}Ｍより優れた（即ち数値的には小さい）親和性（K_D）でＦｃＲｎ（例えばヒトＦｃＲｎ）に結合することができる。１つの実施形態では、前記抗体は、実質的にｐＨに依存せず、又は実質的にｐＨに依存して、ｐＨ６にて約３．０～８２ｎＭの範囲のK_Dで、ＦｃＲｎに結合するＦａｂである。１つの実施形態では、前記抗体は、実質的にｐＨに依存せず、又は実質的にｐＨに依存して、ｐＨ７．５にて約９．７～３９．７ｎＭの範囲のK_Dで、ＦｃＲｎに結合するＦａｂである。１つの実施形態では、前記抗体は、実質的にｐＨに依存せず、又は実質的にｐＨに依存して、ｐＨ６にて約０．４０９～約２９．５ｎＭ、約２．４４～約２９．５ｎＭ、約０．１３～約１．０３ｎＭ、約６．４３～約３０．２ｎＭ、約０．２～約２．８７ｎＭ、約０．３４～約２．８７ｎＭ、又は約０．２～約３０．２ｎＭの範囲のK_Dで、ＦｃＲｎに結合するＩｇＧである。１つの実施形態では、前記抗体は、実質的にｐＨに依存せず、又は実質的にｐＨに依存して、ｐＨ７．５にて約０．６７５～２４．２ｎＭ、２．１～２４．２ｎＭ、０．１５８～１０ｎＭ、又は約２．０４～約８０ｎＭの範囲のK_Dで、ＦｃＲｎに結合するＩｇＧである。

【００８５】

１つの実施形態では、前記抗体は、ｐＨ約６にて８００ｎＭ、６００ｎＭ、又は３００ｎＭ、２００ｎＭ、１００ｎＭ、１ｎＭ、５０ｐＭ未満のIC_{50}でＦｃＲｎのＩｇＧ－Ｆｃへの結合を阻害する。１つの実施形態では、前記抗体は、実質的にｐＨに依存せず、又は実質的にｐＨに依存して、ｐＨ６にて約１３～７５４ｎＭ又は約１３～８０ｎＭの範囲のIC_{50}でＦｃＲｎのＩｇＧ－Ｆｃへの結合を阻害する。１つの実施形態では、前記抗体は、実質的にｐＨに依存せず、又は実質的にｐＨに依存して、ｐＨ６にて約１．２～３６ｎＭ、３６～１２０ｎＭ、１２０～５６２ｎＭ、１．５～５．４ｎＭ、５．４～５０ｎＭ、５１～１６１ｎＭの範囲のIC_{50}でＦｃＲｎの結合を阻害する。

【００８６】

１つの実施形態では、前記抗体は、例えば単鎖抗体、Ｆａｂ、ｓＦａｂ断片、Ｆ（ａｂ’）２、Ｆｄ断片、Ｆｖ断片、ｓｃＦｖ、又はｄＡｂ断片である。

【００８７】

幾つかの実施形態では、前記抗体は、単一特異的、例えばモノクローナル抗体又は組換え抗体である。「単一特異的抗体」という用語は、特定の標的、例えばエピトープに対して単一結合特異性及び親和性を示す抗体を指す。この用語は「モノクローナル抗体」又は「モノクローナル抗体組成物」を含み、これらは本明細書で使用されるとき、単一分子組成の抗体製剤を指す。

【００８８】
１つの実施形態では、前記抗体は、組換え又は修飾抗ＦｃＲｎ抗体であり、例えばキメラ、ヒト化、脱免疫、又はインビトロで生成された抗体である。用語「組換え」又は「修飾」ヒト抗体は、本明細書で使用されるとき、組換え手段により調製、発現、作製、又は単離した全ての抗体を含み、例えば宿主細胞にトランスフェクトされた組換え発現ベクターを用いて発現した抗体、組換え、コンビナトリアル抗体ライブラリから単離された抗体、ヒト免疫グロブリン遺伝子を導入した動物（例えばマウス）から単離された抗体、又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を含む任意の他の手段により調製、発現、作製、又は単離した抗体である。かかる組換え抗体としては、ヒト化抗体、ＣＤＲグラフト抗体、キメラ抗体、脱免疫抗体、インビトロで生成された抗体が挙げられ、任意的にヒト生殖系免疫グロブリン配列由来の定常領域を含んでもよい。１つの実施形態では、前記抗体は、ヒトにおいて抗グロブリン応答を誘発しない。
【００８９】
また、ＦｃＲｎの重複するエピトープに結合する、又は本明細書に開示される抗ＦｃＲｎ抗体のＦｃＲｎへの結合を競合的に阻害する抗体（完全長抗体、又はその抗原結合断片を含む）をも開示し、その例には、例えばＦｃＲｎの重複するエピトープに結合する、又はｓＦａｂ　５３２Ａ－Ｍ００９０－Ｆ０９、Ｍ００８４－Ｂ０３、Ｍ００５６－Ｇ０５、Ｍ００８４－Ｂ１１、Ｍ００９２－Ｄ０２、Ｍ００５５－Ｇ１２、Ｍ００５７－Ｆ０２、Ｍ００６２－Ｃ０９、Ｍ００６４－Ｈ０４、Ｍ００７３－Ｅ１０、又はＭ００９０－Ｆ１１のＦｃＲｎへの結合を競合的に阻害する抗体が挙げられる。抗ＦｃＲｎ抗体の組み合わせ、例えばＦｃＲｎの異なる領域に結合する２つ以上の抗体、例えばＦｃＲｎの細胞外ドメイン上の２つの異なるエピトープに結合する抗体を使用してもよい。或いは、二重特異的抗体を用いてもよい。二重特異的抗体は、単一分子が２つの特異的結合能を実現するように、２つの可変重鎖ドメイン及び２つの可変軽鎖ドメインを含む分子であり、１つ以上の可変ドメイン又は特異性は本明細書に記載される抗体のものであり得、ＦｃＲｎに結合することができる。
【００９０】
１つの実施形態では、抗ＦｃＲｎ抗体（例えば完全長抗体又はその抗原結合断片）は、少なくとも１つの軽鎖又は重鎖可変ドメイン配列（例えば少なくとも１つの軽鎖免疫グロブリン及び少なくとも１つの重鎖免疫グロブリン）を含む。幾つかの実施形態では、各免疫グロブリンは、ＦｃＲｎと相互作用する抗体(例えば本明細書に記載されるｓＦａｂ、例えば５３２Ａ－Ｍ００９０－Ｆ０９、Ｍ００８４－Ｂ０３、Ｍ００５６－Ｇ０５、Ｍ００８４－Ｂ１１、Ｍ００９２－Ｄ０２、Ｍ００５５－Ｇ１２、Ｍ００５７－Ｆ０２、Ｍ００６２－Ｃ０９、Ｍ００６４－Ｈ０４、Ｍ００７３－Ｅ１０、又はＭ００９０－Ｆ１１)の軽鎖又は重鎖可変ドメイン配列のＣＤＲと実質的に同一である少なくとも１つ、２つ、又は３つの相補性決定領域（ＣＤＲ）を有する軽鎖又は重鎖可変ドメイン配列を含む。
【００９１】
１つの実施形態では、前記抗体は、その抗原結合ドメインを用いてＦｃＲｎに結合し、またそのＦｃ領域を通してＦｃＲｎに結合する。１つの実施形態では、前記抗体は、その抗原結合ドメインのみを用いてＦｃＲｎに結合する。例えば前記抗体は、Ｆｃ領域を含まない、又はＦｃＲｎと相互作用しない改変Ｆｃ領域を含む。１つの実施形態では、前記抗体は、そのＦｃドメインを介してよりも、その抗原結合ドメインを介して、少なくとも１０００倍強くにＦｃＲｎに結合する。
【００９２】
１つの実施形態では、前記抗体のＦｃＲｎへの結合は、２～１０、４～９、５～８、６～８、又は６～７．５の範囲で実質的にｐＨ非依存性である。「ｐＨ非依存性」という用語は、２～１０、４～９、５～８、６～８、又は６～７．５の範囲のｐＨにおいて、抗体がＦｃＲｎに結合する能力及び／又はＦｃＲｎに結合した状態を保つ能力を指す。親和性は種々のｐＨ値で変動し得る。幾つかの実施形態では、K_Dは、２００ｎＭ、５０ｎＭ、１０ｎＭ、１ｎＭ、又は１００ｐＭ以下、又はその範囲内の任意の値である。例えば前記

抗体は、ｐＨ６でＦｃＲｎに結合することができ、ｐＨ７．５で結合した状態を保つことができる。１つの実施形態では、前記抗体のＦｃＲｎへの結合は、実質的にｐＨ依存性である。「ｐＨ非依存性」という用語は、第１のｐＨにおいて抗体がＦｃＲｎに結合する能力及び／又はＦｃＲｎに結合した状態を保つ能力、並びに第２のｐＨにおいて、抗体がＦｃＲｎに結合する能力及び／又はＦｃＲｎに結合した状態を保つ能力を指し、この場合第２のｐＨは第１のｐＨのｐＨ単位（例えば６、５、４、３、２、１．５単位）の所与の値内である。例えば前記抗体は、ｐＨ６でＦｃＲｎに結合することができ、ｐＨ７．５でもＦｃＲｎに結合する又は結合した状態を保つことができる。「ｐＨ依存性」という用語は、第１のｐＨにおいて抗体がＦｃＲｎに結合する及び／又は結合した状態を保つ能力、並びに第２のｐＨにおいて抗体がＦｃＲｎに結合する及び／又は結合した状態を保つ能力を欠くことを指し、この場合第２のｐＨは第１のｐＨのｐＨ単位（例えば６、５、４、３、２、１．５単位）の所与の値内である。例えば前記抗体は、ｐＨ６でＦｃＲｎに結合することができ、ｐＨ７．５ではＦｃＲｎに結合できない又は結合した状態を保つことができない。

【００９３】

１つの実施形態では、前記抗体は、ｐＨに依存して、又はｐＨに依存せず、ラット又はサルＦｃＲｎに比べてヒトＦｃＲｎに優先的に結合する。１つの実施形態では、前記抗体は、２倍、５倍、又は１０倍より多くは異ならない親和性で、ヒトＦｃＲｎ及び好適な実験動物（例えばラット又はサル）のＦｃＲｎの両方に結合する。１つの実施形態では、前記抗体は、６．０～７．５のｐＨ範囲にて、$K_D \leqq 5$ｎＭでヒトＦｃＲｎ及び好適な実験動物のＦｃＲｎの両方に結合する。１つの実施形態では、前記抗体は、エンドソーム内又はエンドソーム条件下でＦｃＲｎに結合する。例えば、前記抗体は、酸性条件下、例えばｐＨ６でＦｃＲｎに結合する。１つの実施形態では、前記抗体は、ｐＨ６にて、ｐＨ７．５よりも例えば少なくとも１．５倍、２倍、５倍、８倍、１０倍、２０倍、又は５０倍多く結合する。１つの実施形態では、前記抗体は、ｐＨ７．５にて、ｐＨ６よりも例えば少なくとも１．５倍、２倍、５倍、８倍、１０倍、２０倍、又は５０倍急速にＦｃＲｎを解放する。１つの実施形態では、前記抗体は、ｐＨ７．５にて、ｐＨ６よりも例えば少なくとも１．５倍、２倍、５倍、８倍、１０倍、２０倍、又は５０倍多くＦｃＲｎに結合する。１つの実施形態では、前記抗体は、ｐＨ６にて、ｐＨ７．５よりも例えば少なくとも１．５倍、２倍、５倍、８倍、１０倍、２０倍、又は５０倍急速にＦｃＲｎを解放する。１つの実施形態では、前記抗体は、ｐＨ７．５ではＦｃＲｎを解放しない。１つの実施形態では、前記抗体は、ｐＨ６ではＦｃＲｎを解放しない。

【００９４】

１つの実施形態では、ＦｃＲｎとの前記相互作用は、前記抗体の半減期を延長させる。１つの実施形態では、前記抗体は、他のＩｇＧ分子の半減期を、例えば少なくとも５、１０、２０、４０、５０、６０、７０、８０、又は９０％短縮させる。例えば９０％の短縮は、抗体の半減期を２０日から２日に変化させる。

【００９５】

１つの実施形態では、前記抗体は、対象に投与されたとき、自己免疫障害に関する症状を寛解させる。例えば前記抗体は、関節腫脹、関節の疼痛、又は関節硬直；自己抗体等の抗体の循環量；関節の痛み（関節痛）；発熱；極度の疲労；発疹；貧血；胸の痛み又は深呼吸時の痛み；頬及び鼻にわたる蝶形皮疹；光線過敏症；脱毛；発作；口腔内又は鼻腔内潰瘍；レイノー現象；軽度の紅斑；神経精神病学的徴候；血小板減少症；及び胸水等の症状を軽減する、又は重篤度を低下させることができる。

【００９６】

１つの実施形態では、ＨＣ及びＬＣ可変ドメイン配列は、同じポリペプチド鎖の構成要素である、即ちこれらは単鎖抗体の一部である。１つの実施形態では、ＨＣ及びＬＣ可変ドメイン配列は、異なるポリペプチド鎖の構成要素である。

【００９７】

１つの実施形態では、前記抗体は、完全長抗体である。例えば、前記抗体はヒト抗体又

はヒト化抗体であってもよく、及び／又はヒトにおいて非免疫原性であり得る。１つの実施形態では、前記抗体はヒト抗体フレームワーク領域を含む。１つの実施形態では、前記抗体はＦｃドメインを含む。

【００９８】

１つの実施形態では、ＨＣ可変ドメイン配列は、３Ｂ３．１１、３１．１、５３２Ａ－Ｍ００９０－Ｆ０９、Ｍ００８４－Ｂ０３、Ｍ００５６－Ｇ０５、Ｍ００８４－Ｂ１１、Ｍ００９２－Ｄ０２、Ｍ００５５－Ｇ１２、Ｍ００５７－Ｆ０２、Ｍ００６２－Ｃ０９、Ｍ００６４－Ｈ０４、Ｍ００７３－Ｅ１０、又はＭ００９０－Ｆ１１の可変ドメイン配列を含み、ＬＣ可変ドメイン配列は、３Ｂ３．１１、３１．１、５３２Ａ－Ｍ００９０－Ｆ０９、Ｍ００８４－Ｂ０３、Ｍ００５６－Ｇ０５、Ｍ００８４－Ｂ１１、Ｍ００９２－Ｄ０２、Ｍ００５５－Ｇ１２、Ｍ００５７－Ｆ０２、Ｍ００６２－Ｃ０９、Ｍ００６４－Ｈ０４、Ｍ００７３－Ｅ１０、又はＭ００９０－Ｆ１１の可変ドメイン配列を含む。１つの実施形態では、前記抗体は、３Ｂ３．１１、３１．１、５３２Ａ－Ｍ００９０－Ｆ０９、Ｍ００８４－Ｂ０３、Ｍ００５６－Ｇ０５、Ｍ００８４－Ｂ１１、Ｍ００９２－Ｄ０２、Ｍ００５５－Ｇ１２、Ｍ００５７－Ｆ０２、Ｍ００６２－Ｃ０９、Ｍ００６４－Ｈ０４、Ｍ００７３－Ｅ１０、又はＭ００９０－Ｆ１１の結合するＦｃＲｎエピトープに結合する。１つの実施形態では、前記抗体は、ＦｃＲｎへの結合について、５３２Ａ－Ｍ００９０－Ｆ０９、Ｍ００８４－Ｂ０３、Ｍ００５６－Ｇ０５、Ｍ００８４－Ｂ１１、Ｍ００９２－Ｄ０２、Ｍ００５５－Ｇ１２、Ｍ００５７－Ｆ０２、Ｍ００６２－Ｃ０９、Ｍ００６４－Ｈ０４、Ｍ００７３－Ｅ１０、又はＭ００９０－Ｆ１１と競合する。

【００９９】

１つの態様では、本発明は、モノクローナル抗体を作製する方法であって、ＦｃＲｎタンパク質若しくはその少なくとも１つの断片、又はＦｃＲｎ分子若しくはその断片をコードするポリヌクレオチド配列でげっ歯類を免疫することと；前記げっ歯類からＢ細胞を得ることと；前記Ｂ細胞を骨髄腫細胞株と融合させて、ハイブリドーマ細胞を得ることと；前記ハイブリドーマ細胞がモノクローナル抗体を分泌するような条件下でハイブリドーマ細胞を培養して、前記抗体がＦｃＲｎ分子に特異的に結合する少なくとも１つの可変領域を含み、前記ＦｃＲｎ分子が少なくともＩｇＧ定常領域の一部に結合することができるドメインを含み、前記抗体の前記ＦｃＲｎ分子への結合が、ＩｇＧ定常領域の一部の前記ＦｃＲｎ分子への結合を阻害するようにすることと；前記抗体を単離することとを含む方法を提供する。

【０１００】

１つの態様では、本開示は、ＦｃＲｎ、例えばヒトＦｃＲｎに結合する抗体を同定する方法を特徴とし、ＦｃＲｎ抗原又はその断片を提供することと；抗体のライブラリ、例えばディスプレイライブラリを提供することと；ＦｃＲｎ抗原に結合するライブラリに結合するライブラリ中に存在するメンバーを特定して、ライブラリの各メンバーがその表面上の異種抗体構成要素を提示し、各メンバーが前記異種抗体構成要素をコードする核酸を含み、前記異種抗体構成要素が多様な抗体構成要素一式のメンバーであるようにすることを含む。前記方法は、特定されたメンバーから核酸分子を単離することを含んでもよく、前記核酸分子はＦｃＲｎ抗原に特異的に結合するポリペプチドをコードする。１つの実施形態では、前記抗体はヒトＦｃＲｎに特異的に結合する。

【０１０１】

１つの実施形態では、前記ライブラリはファージライブラリ、例えばファージディスプレイライブラリである。１つの実施形態では、前記同定されたファージは、競合リガンド、例えばＦｃＲｎに結合するＩｇＧ　Ｆｃを用いて、及び／又は競合する抗ヒトＦｃＲｎ抗体により溶出される。

【０１０２】

別の態様では、本開示は試料中のＦｃＲｎを検出する方法を特徴とし、前記方法は、前記試料とＦｃＲｎ結合抗体（例えば本明細書に記載される抗体）とを接触させることと、前記抗体と、存在する場合ＦｃＲｎとの間の相互作用を検出することとを含む。１つの実

施形態では、前記抗体は、蛍光タグ等の検出可能な標識（例えばｂｏｄｉｐｙ、フルオレセイン－５－イソチオシアネート、ローダミン、及び発色性若しくは化学発光性基質の存在下で検出されるペルオキシダーゼ又はアルカリホスファターゼ）を含む。

【０１０３】

１つの態様では、本開示は、ＦｃＲｎ活性を調節する方法を特徴とし、前記方法は、ＦｃＲｎをＦｃＲｎ結合抗体（例えば本明細書に記載される抗体）と接触させ、それによりＦｃＲｎの活性（例えばＩｇＧ　Ｆｃへの結合）を調節することを含む。１つの実施形態では、ＦｃＲｎはヒト対象中に存在し、前記ＦｃＲｎはヒト対象の上皮若しくは内皮細胞中に存在してもよく、血中（血液に溶解、又は血中循環細胞中）に存在してもよい。１つの実施形態では、前記抗体は、ＦｃＲｎの基質、例えばＩｇＧ　Ｆｃ及び／又は血清アルブミン等の内因性基質への結合を阻止する。１つの実施形態では、ＦｃＲｎは、上皮若しくは内皮細胞エンドソーム内に存在する。

【０１０４】

１つの態様では、本開示は、障害、例えば自己免疫障害又は異常なＦｃＲｎ活性に関連する障害の症状を治療、予防、及び／又は調節する方法を特徴とする。前記方法は、ＦｃＲｎ結合抗体（例えば本明細書に記載される抗体）を対象、例えば前記障害に罹患している又は前記障害を発現するリスクを有する対象に投与することを含む。１つの実施形態では、前記リガンドは、前記障害の症状を調節するのに十分な量及び／又は時間投与される。

【０１０５】

１つの実施形態では、自己免疫障害は、関節リウマチ（ＲＡ）、全身性エリテマトーデス（ＳＬＥ）、重症筋無力症（ＭＧ）、グレーブス病、特発性血小板減少性紫斑病（ＩＴＰ）、ギランバレー症候群、自己免疫性心筋炎、膜型糸球体腎炎、真性糖尿病、Ｉ型又はＩＩ型糖尿病、多発性硬化症、レイノー症候群、自己免疫性甲状腺炎、胃炎、セリアック病、白斑、肝炎、原発性胆汁性肝硬変、炎症性腸疾患、免疫性好中球減少症、脊椎関節症、実験的自己免疫性脳脊髄炎、若年発症糖尿病、及びサイトカイン仲介性遅延型過敏症に関連する免疫反応、典型的には結核で見られるＴリンパ球、サルコイドーシス、及び多発性筋炎、多発性動脈炎、皮膚血管炎、天疱瘡、類天疱瘡、グッドパスチャー症候群、川崎病、全身性硬化症、抗リン脂質症候群、及びシェーグレン症候群から成る群から選択される障害である。

【０１０６】

１つの実施形態では、本発明の抗体を用いて、血液脳関門を超えるＩｇＧの輸送を阻害することができる。別の実施形態では、本発明の抗体を用いて、脳腫瘍又はアルツハイマー病を治療することができる。

【０１０７】

１つの実施形態では、前記抗体は、内因性ＩｇＧの半減期を短縮する。１つの実施形態では、自己免疫障害は、不所望の循環ＩｇＧ、例えば不所望の循環病原性ＩｇＧを特徴とする。

【０１０８】

１つの態様では、本開示は、対象中のＦｃＲｎを検出する方法を特徴とし、前記方法は、検出可能な標識を含むＦｃＲｎ結合抗体（例えば本明細書に記載される抗体）を対象に投与することと；前記対象中の前記標識を検出することとを含む。前記方法は、例えばＭＲＩ等の断層撮影法等を用いて対象を画像化することを含み得る。

【０１０９】

１つの態様では、本開示は、循環ＩｇＧの半減期／量を調節する方法を特徴とし、前記方法は、循環ＩｇＧの半減期／量を調節する必要のある対象、例えばヒトを特定することと；対象中の循環ＩｇＧの半減期／量を調節するのに十分な量のＦｃＲｎ結合抗体（例えば本明細書に記載される抗体）を対象に投与することとを含む。１つの実施形態では、前記方法は、循環ＩｇＧの半減期／量を減少させる。１つの実施形態では、循環ＩｇＧの半減期／量を減少させるために、別の抗自己免疫障害剤又は療法と組み合わせて前記抗体を

投与する。ＦｃＲｎ抗体の投与と他の抗自己免疫障害剤又は療法との組み合わせにより、循環ＩｇＧの半減期／量を調節又は減少させるために必要な他の抗自己免疫障害剤又は療法の量を減少させ得る。

【０１１０】

別の態様では、本開示は３Ｂ３．１１，３１．１，５３２Ａ－ Ｍ００９０－Ｆ０９、Ｍ００８４－Ｂ０３、Ｍ００５６－Ｇ０５、Ｍ００８４－Ｂ１１、Ｍ００９２－Ｄ０２、Ｍ００５５－Ｇ１２、Ｍ００５７－Ｆ０２、Ｍ００６２－Ｃ０９、Ｍ００６４－Ｈ０４、Ｍ００７３－Ｅ１０、又はＭ００９０－Ｆ１１の第１の可変ドメイン配列の配列と少なくとも８０、８５、９０、９２、９４、９５、９６、９７、９８、９９、又は１００％同一である配列、又は３Ｂ３．１１、３１．１、５３２Ａ－Ｍ００９０－Ｆ０９、Ｍ００８４－Ｂ０３、Ｍ００５６－Ｇ０５、Ｍ００８４－Ｂ１１、Ｍ００９２－Ｄ０２、Ｍ００５５－Ｇ１２、Ｍ００５７－Ｆ０２、Ｍ００６２－Ｃ０９、Ｍ００６４－Ｈ０４、Ｍ００７３－Ｅ１０、又はＭ００９０－Ｆ１１の可変ドメインの配列をコードする核酸に（例えばストリンジェントな条件下で）ハイブリダイズする配列を含む第１のポリペプチドをコードする第１の配列を含む単離核酸を特徴とする。１つの実施形態では、前記核酸は、（対応する可変ドメインの）第２の可変ドメイン配列、例えば３Ｂ３．１１、３１．１、５３２Ａ－Ｍ００９０－Ｆ０９、Ｍ００８４－Ｂ０３、Ｍ００５６－Ｇ０５、Ｍ００８４－Ｂ１１、Ｍ００９２－Ｄ０２、Ｍ００５５－Ｇ１２、Ｍ００５７－Ｆ０２、Ｍ００６２－Ｃ０９、Ｍ００６４－Ｈ０４、Ｍ００７３－Ｅ１０、又はＭ００９０－Ｆ１１の第２の可変ドメイン配列の配列と少なくとも８０、８５、９０、９２、９４、９５、９６、９７、９８、９９、又は１００％同一である配列、又は３Ｂ３．１１、３１．１、５３２Ａ－Ｍ００９０－Ｆ０９、Ｍ００８４－Ｂ０３、Ｍ００５６－Ｇ０５、Ｍ００８４－Ｂ１１、Ｍ００９２－Ｄ０２、Ｍ００５５－Ｇ１２、Ｍ００５７－Ｆ０２、Ｍ００６２－Ｃ０９、Ｍ００６４－Ｈ０４、Ｍ００７３－Ｅ１０、又はＭ００９０－Ｆ１１の可変ドメインの配列をコードする核酸に（例えばストリンジェントな条件下で）ハイブリダイズする配列を含む第２のポリペプチドをコードする第２の配列を含む。１つの実施形態では、前記核酸は、制御配列（例えばプロモータ配列、非翻訳５’領域、及び非翻訳３’領域）及び／又はベクター配列を更に含む。例えば核酸はベクターを構成する。

【０１１１】

更に別の態様では、本開示は抗体を発現することができる宿主細胞を特徴とする。宿主細胞は、（１）３Ｂ３．１１、３１．１、５３２Ａ－Ｍ００９０－Ｆ０９、Ｍ００８４－Ｂ０３、Ｍ００５６－Ｇ０５、Ｍ００８４－Ｂ１１、Ｍ００９２－Ｄ０２、Ｍ００５５－Ｇ１２、Ｍ００５７－Ｆ０２、Ｍ００６２－Ｃ０９、Ｍ００６４－Ｈ０４、Ｍ００７３－Ｅ１０、又はＭ００９０－Ｆ１１の第１の可変ドメイン配列の配列と少なくとも８０、８５、９０、９２、９４、９５、９６、９７、９８、９９、又は１００％同一である配列、又は３Ｂ３．１１、３１．１、５３２Ａ－Ｍ００９０－Ｆ０９、Ｍ００８４－Ｂ０３、Ｍ００５６－Ｇ０５、Ｍ００８４－Ｂ１１、Ｍ００９２－Ｄ０２、Ｍ００５５－Ｇ１２、Ｍ００５７－Ｆ０２、Ｍ００６２－Ｃ０９、Ｍ００６４－Ｈ０４、Ｍ００７３－Ｅ１０、又はＭ００９０－Ｆ１１の可変ドメインの配列を（例えばストリンジェントな条件下で）コードする核酸にハイブリダイズする配列を含む第１の可変ドメイン配列をコードする第１の配列と、（２）（対応する可変ドメインの）第２の可変ドメイン配列、例えば３Ｂ３．１１、３１．１、５３２Ａ－Ｍ００９０－Ｆ０９、Ｍ００８４－Ｂ０３、Ｍ００５６－Ｇ０５、Ｍ００８４－Ｂ１１、Ｍ００９２－Ｄ０２、Ｍ００５５－Ｇ１２、Ｍ００５７－Ｆ０２、Ｍ００６２－Ｃ０９、Ｍ００６４－Ｈ０４、Ｍ００７３－Ｅ１０、又はＭ００９０－Ｆ１１の第２の可変ドメイン配列の配列と少なくとも８０、８５、９０、９２、９４、９５、９６、９７、９８、９９、又は１００％同一である配列、又は５３２Ａ－Ｍ００９０－Ｆ０９、Ｍ００８４－Ｂ０３、Ｍ００５６－Ｇ０５、Ｍ００８４－Ｂ１１、Ｍ００９２－Ｄ０２、Ｍ００５５－Ｇ１２、Ｍ００５７－Ｆ０２、Ｍ００６２－Ｃ０９、Ｍ００６４－Ｈ０４、Ｍ００７３－Ｅ１０、又はＭ００９０－Ｆ１１の可変ドメインの配列を（例えばストリンジェントな条件下で）コードする核酸にハイブリダイズする配列を含む第２

の可変ドメイン配列をコードする第２の配列とを集合的に含む１つ以上の核酸を含む。
【０１１２】
１つの態様では、本開示は、自己免疫障害を治療又は予防する方法を特徴とし、前記方法は、ＦｃＲｎ結合抗体（例えば本明細書に記載される抗体）を、例えば第２の療法と組み合わせて、自己免疫障害に罹患している又は前記障害を発現するリスクを有する対象に投与することを含む。例えば第２の療法は、前記障害の治療又は予防に好適な療法であり得る。１つの実施形態では、前記第２の療法としては、静脈内Ｉｇ療法；非ステロイド性抗炎症薬（ＮＳＡＩＤ）；コルチコステロイド；シクロスポリン、ラパマイシン、アスコマイシン、又はこれらの免疫抑制類似体、例えばシクロスポリンＡ、シクロスポリンＧ、ＦＫ－５０６、ラパマイシン、４０－Ｏ－（２－ヒドロキシ）エチル－ラパマイシン；シクロホスファミド；アザチオプリン；メトトレキサート；ブレキナル；ＦＴＹ７２０；レフルノミド；ミゾリビン；ミコフェノール酸；ミコフェノール酸モフェチル；１５－デオキシスペルグアリン；免疫抑制モノクローナル抗体、例えば白血球受容体に対するモノクローナル抗体、例えばＭＨＣ、ＣＤ２、ＣＤ３、ＣＤ４、ＣＤ７、ＣＤ２５、ＣＤ２８、Ｂ７、ＣＤ４５、若しくはＣＤ５８、又はこれらのリガンド；他の免疫調節化合物、例えばＣＴＬＡ４Ｉｇ；又は他の接着分子阻害剤、例えばｍＡｂ又はセレクチン拮抗剤を含む低分子量阻害剤が挙げられる。
【０１１３】
別の態様では、本開示は胎児を治療する方法を特徴とし、前記方法は小分子又は巨大分子薬、例えば抗生物質又はワクチン（例えばウイルス性ワクチン）をＦｃＲｎ結合抗体にコンジュゲート化させることと、前記コンジュゲートを子宮内に胎児のいる妊婦に投与することとを含む。１つの実施形態では、前記胎児は、障害に罹患している又は障害のリスクを有する。例示的障害としては、免疫学的障害（例えば自己免疫障害、代謝障害、又は感染性障害、例えば細菌若しくはウイルス感染、例えば腸管感染（例えばピロリ菌感染）が挙げられる。
【０１１４】
別の態様では、本開示は乳幼児を治療する方法を特徴とし、前記方法は、小分子又は巨大分子薬をＦｃＲｎに結合する抗体、例えば本明細書に記載される抗体にコンジュゲート化させることと、前記コンジュゲート化抗体を母乳に導入することとを含む。１つの実施形態では、前記コンジュゲート化抗体は女性に投与され、前記女性が前記乳幼児に直接（例えば授乳）、又は間接的に母乳を与える。
【０１１５】
本発明は抗体の好ましい実施形態に関して主に論じられるが、当業者は、抗体以外の結合タンパク質又はリガンドが本開示の範囲内であることを容易に認識するであろう。
【図面の簡単な説明】
【０１１６】
【図１】図１は、ｈＦｃＲｎ又はＧＰＩ結合ｈＦｃＲｎをコードするＤＮＡ、及びヒトβ２Ｍをコードするで免疫された動物から、免疫の５６日後に採取したマウス血清中の抗体の、ｈＦｃＲｎ又はヒトβ２Ｍのいずれかに対する反応性に関する、ＥＬＩＳＡ分析の結果を示す。マウス番号１８０～１８４はプラスミドにコードされたｈＦｃＲｎで免疫され、マウス番号１８５～１８９はプラスミドにコードされたｈＦｃＲｎ及びプラスミドにコードされたｈβ２Ｍで免疫され、マウス番号１９０～１９４はプラスミドにコードされたＧＰＩ結合ｈＦｃＲｎで免疫され、マウス番号１９５～１９９はプラスミドにコードされたＧＰＩ結合ｈＦｃＲｎ及びプラスミドにコードされたｈβ２Ｍで免疫された。
【図２】図２は、ｈＦｃＲｎ又はＧＰＩ結合ｈＦｃＲｎをコードするＤＮＡ、及びヒトβ２Ｍをコードするで免疫された動物から、免疫の９４日後に採取したマウス血清中の抗体の、ｈＦｃＲｎ又はヒトβ２Ｍのいずれかに対する反応性に関する、ＥＬＩＳＡ分析の結果を示す。
【図３】図３は、１８２番のマウスに由来するクローンの上清が２９３Ｃ１１細胞（ＦｃＲｎを過剰発現するよう改変されたＨＥＫ２９３細胞）上のｈＦｃＲｎに対するｈＩｇＧ

の結合をブロックできるかどうかを決定するために実施されたＦＡＣＳ分析の結果を示す。２９３Ｃ１１細胞を６０～９０分間ハイブリドーマ上清と共にインキュベートし、次いでＰＢＳで洗浄した後、Ａｌｅｘａ　ｆｌｕｏｒ－４８８標識ｈＩｇＧと共にインキュベートした。結果は、（Ａ）合計平均蛍光強度（ＴＭＦＩ）又は（Ｂ）ヒトＩｇＧのＦｃＲｎへの結合の変化（阻害又は増強）の割合（％）について表す。

【図４】図４は、実施例６に記載される方法により、１８７番のマウスに由来するハイブリドーマ上清のブロッキング活性を測定するために実施されたＦＡＣＳ分析の結果を示す。結果は、（Ａ）合計平均蛍光強度（ＴＭＦＩ）又は（Ｂ）ヒトＩｇＧのＦｃＲｎへの結合の変化（阻害又は増強）の割合（％）について表す。

【図５】図５は、Ａｌｅｘａ－４８８－標識ｈＩｇＧ及び抗ＦｃＲｎブロッキングモノクローナル抗体又はｈＩｇＧ１の存在下でインキュベートされた２９３Ｃ１１細胞（ＦｃＲｎを高発現するよう改変されたＨＥＫ２９３細胞）の細胞表面染色を評価することにより、種々の濃度の（Ａ）ｍＡｂ３１．１、ｍＡｂ４．１３、及びｈＩｇＧ１；又は（Ｂ）ｍＡｂ３Ｂ３．１１、ｍＡｂ４Ｂ４．１２、及びｈＩｇＧ１におけるＦｃＲｎのブロッキング活性能を測定するために実施されたＦＡＣＳ分析の結果を示す。結果は、種々の濃度のＴＭＦＩを競合物質の存在しない試料のＴＭＦＩで除し、１００％を乗じたものとして定義される、２９３Ｃ１１細胞に対するＩｇＧの結合の割合（％）として表す。

【図６】図６は、ｍＡｂ３Ｂ３．１１、ｍＡｂ３１．１、ｍＡｂ４．１３、ｍＡｂ４Ｂ４．１２、及びｍＡｂ１５Ｂ６．１の、ＦｃＲｎ発現２９３Ｃ１１細胞（ＦｃＲｎを過剰発現するよう改変されたＨＥＫ２９３細胞）の細胞表面に対する結合を測定するために実施されたＦＡＣＳ分析の結果をヒストグラムで示す。

【図７】図７は、ｍＡｂ３Ｂ３．１１、ｍＡｂ３１．１、ｍＡｂ４．１３、及びｍＡｂ４Ｂ４．１２の、ラットＦｃＲｎ発現細胞（ラットＦｃＲｎを過剰発現するよう改変されたラット線維芽細胞）の細胞表面に対する結合を測定するために実施されたＦＡＣＳ分析の結果をヒストグラムで示す。

【図８】図８は、ｍＡｂ３Ｂ３．１１、ｍＡｂ４．１３、ｍＡｂ３１．１、ｍＡｂ４Ｂ４．１２、及びｍＡｂ１５Ｂ６．１の、ＦｃＲｎ発現マウス３Ｔ３細胞（マウスＦｃＲｎを過剰発現するよう改変されたＮＩＨ３Ｔ３細胞）の細胞表面に対する結合を測定するために実施されたＦＡＣＳ分析の結果をヒストグラムで示す。

【図９】図９は、ｍＡｂ３Ｂ３．１１、ｍＡｂ４．１３、ｍＡｂ３１．１、ｍＡｂ４Ｂ４．１２、及びｍＡｂ１５Ｂ６．１の、ＴＨＰ細胞（ヒト単核球細胞株）の細胞内で発現するｈＦｃＲｎに対する結合を測定するために実施されたＦＡＣＳ分析の結果をヒストグラムで示す。

【図１０】図１０は、ｍＡｂ３Ｂ３．１１、ｍＡｂ４．１３、ｍＡｂ３１．１、ｍＡｂ４Ｂ４．１２、及びｍＡｂ１５Ｂ６．１の、Ｃａｃｏ－２細胞（ヒト腸管上皮細胞株）の細胞内で発現するｈＦｃＲｎに対する結合を測定するために実施されたＦＡＣＳ分析の結果をヒストグラムで示す。

【図１１】図１１は、ｍＡｂ４Ｂ４．１２又はアイソタイプ対照ｍＩｇＧ２ａ（１８１３）のいずれかと表面上又は細胞内で反応する、（Ａ）マウス脾臓由来のマクロファージ集団、及び（Ｂ）全マウス脾細胞集団の割合（％）を示す。

【図１２】図１２は、ＯＶＡ＋ＣＦＡで免疫され、ｍＡｂ４Ｂ４．１２、アイソタイプ対照ｍＩｇＧ２ａ（１８１３）、又はＰＢＳのいずれかで処理されたマウスの（Ａ）脾臓及び（Ｂ）鼠径リンパ節の平均重量を示す。マウスは、ＯＶＡ＋ＣＦＡで免疫され、１ｇのｍＡｂ４Ｂ４．１２、アイソタイプ対照１８１３を１０回注入することにより腹腔内処理された。

【図１３】図１３は、ＯＶＡで免疫され、次いでｍＡｂ４Ｂ４．１２、陽性対照であるｍＩｇＧ２ａ（１８１３）、又はＰＢＳのいずれかで処理されたＢａｌｂ／ｃマウスの抗オボアルブミン（ＯＶＡ）ＩｇＧの、血清濃度に対する効果を示す。抗体処理は、抗体の毎日腹腔内（ＩＰ）注入を３回と、続いて抗体の隔日ＩＰ注入を１０回行うことから成っていた。示される結果は、抗体処理（５回注入）の９日後に得られた。

【図１４】図１４は、１ｍｇ／ｋｇのヒトＩｇＧ（Ｓｙｎａｇｉｓ）を腹腔内（ＩＰ）注入し、次いで７２時間後２０ｍｇ／ｋｇのｍＡｂ４Ｂ４．１２、２０ｍｇ／ｋｇのアイソタイプ対照であるｍＩｇＧ２ａ（１８１３）、又はＰＢＳのいずれかを単回ＩＰ注入することにより処理されたＣＤ－１マウスのヒトＩｇＧの、血清濃度に対する効果を示す。血清試料は、ｍＡＢ注入直前（Ｓｙｎａｇｉｓ注入の７２時間後）、ｍＡＢ注入の７２時間後及び１６８時間後に採取した。示される結果は、抗体処理の２４時間後に採取された血清から得られた。

【図１５】図１５は、２つの血清採取点（７２及び１６８時間）を加えた、図１４に記載された実験と同じ実験を示す。結果は、ｍＡＢ注入前のＳｙｎａｇｉｓ濃度と比較したときの残存Ｓｙｎａｇｉｓの割合（％）として表された。

【図１６】図１６は、ｍＡｂ４Ｂ４．１２、アイソタイプ対照であるｍＩｇＧ２ａ（１８１３）、又はＰＢＳのいずれかによる処理の、実験的自己免疫重症筋無力症（ＥＡＭＧ）の症状の重篤度に対する影響の経時変化を示す。疾患の重篤度は、以下のように次第に重篤な症状を示す０から４の等級を割り当てることにより評価された：０－症状無；１－握力低下、易疲労、及び時に喘鳴；２－全身的脱力、安静時猫背、体重減少、振戦；３－重篤な脱力、瀕死；及び４－死。

【図１７】図１７は、ｍＡｂ４Ｂ４．１２、アイソタイプ対照であるｍＩｇＧ２ａ（１８１３）、又はＰＢＳのいずれかにより処理の、実験的自己免疫重症筋無力症（ＥＡＭＧ）の結果としての体重減少（ｙ軸にグラムで示される）に対する影響を示す。

【図１８】図１８は、Ｔｇ３２Ｂマウス（ｈＦｃＲｎ＋／＋、ｈβ２Ｍ＋／＋、ｍＦｃＲｎ－／－、ｍβ２Ｍ－／－）における、ビオチン化ヒトＩｇＧ（ビオチン－ｈＩｇＧ）と非標識ヒトＩｇＧ（ｈＩｇＧ）のクリアランス動態の比較を示す。動物は、５ｍｇ／ｋｇのビオチン化ヒトＩｇＧ（Ｓｙｎａｇｉｓ）及び４９５ｍｇ／ｋｇの非標識ｈＩｇＧを静脈内（ＩＶ）注入された。血清は、図に示す時点で回収され、血清ビオチン－ｈＩｇＧ濃度はアビジンプレート（Ｐｉｅｒｃｅ　Ｃｈｅｍｉｃａｌｓ）を用いて測定され、非標識ｈＩｇＧはＥＬＩＳＡにより測定された。

【図１９】図１９は、ｍＡｂ３Ｂ３．１１で動物を処理した後のＴｇ３２Ｂマウス（ｈＦｃＲｎ＋／＋、ｈβ２Ｍ＋／＋、ｍＦｃＲｎ－／－、ｍβ２Ｍ－／－）における、ビオチン化ヒトＩｇＧ（ビオチン－ｈＩｇＧ）のクリアランス動態を示す。動物は、５ｍｇ／ｋｇのビオチン化ヒトＩｇＧ（Ｓｙｎａｇｉｓ）及び４９５ｍｇ／ｋｇの非標識ｈＩｇＧを静脈内（ＩＶ）注入された。２４時間後、５０ｍｇ／ｋｇのｍＡｂ３Ｂ３．１１の毎日ＩＶ注入を開始し、次いで５日間継続した。血清は図に示す時点で回収され、血清ビオチン－ｈＩｇＧ濃度はアビジンプレート（Ｐｉｅｒｃｅ　Ｃｈｅｍｉｃａｌｓ）を用いて測定された。

【図２０】図２０は、ｍＡｂ３Ｂ３．１１、ｍＡｂ４．１３、ｍＡｂ３１．１、ｍＡｂ４Ｂ４．１２、及びｍＡｂ１５Ｂ６．１の、サルＦｃＲｎ／β２ＭでトランスフェクトされたＣＯＳ１細胞への結合を測定するために実施されたＦＡＣＳ分析の結果を棒グラフで示す。結果はＴＭＦＩで表される。

【図２１】図２１は、ｍＡＢ３Ｂ３．１１、１５Ｂ６．１、４．１３、及び３１．１のＦｃＲｎα鎖に対する特異的結合、並びにｍＡｂ３Ｂ５．４及び５Ａ４．９のβ２Ｍへの特異的結合を測定するために実施されたウエスタンブロットを示す。

【図２２Ａ】図２２Ａは、これらｍＡＢが認識するエピトープを決定するために実施されたＢｉａｃｏｒｅエピトープ分析の結果を示す。

【図２２Ｂ】図２２Ｂは、これらｍＡＢが認識するエピトープを決定するために実施されたＢｉａｃｏｒｅエピトープ分析の結果を示す。

【図２２Ｃ】図２２Ｃは、これらｍＡＢが認識するエピトープを決定するために実施されたＢｉａｃｏｒｅエピトープ分析の結果を示す。

【図２２Ｄ】図２２Ｄは、これらｍＡＢが認識するエピトープを決定するために実施されたＢｉａｃｏｒｅエピトープ分析の結果を示す。

【図２３】図２３は、４日連続してＭ９０－Ｆ１１、Ｍ８４－Ｂ１１及びＭ５５－Ｇ１２

の静脈内投与を毎日行ったときのＴｇ３２Ｂマウスのビオチン－ＩｇＧ異化作用に対する効果を示す。
【図２４】図２４は、ｈＦｃＲｎ　Ｔｇマウスにおけるｈ ＩｇＧ異化作用に対するＭ９０－Ｆ１１の用量反応を示す（４日連続して毎日静脈内投与）。
【図２５】図２５は、ｈＦｃＲｎ　Ｔｇマウスにおけるｈ ＩｇＧ異化作用に対するＭ９０－Ｆ１１の単回用量反応を示す。
【図２６】図２６は、生殖系列化Ｍ９０－Ｆ１１を親和性成熟させるために用いられるアプローチを示す。
【図２７】図２７は、２０ｍｇ／ｋｇ静脈内投与時のＴｇ３２Ｂマウスにおけるｈ ＩｇＧ異化作用の促進に対する親和性成熟したＩｇＧ及び可溶性ＦＡＢの効果を示す（ビオチンＩｇＧ及び全ＩｇＧ）。
【図２８】図２８は、５ｍｇ／ｋｇ静脈内投与時のＴｇ３２Ｂマウスにおけるｈ ＩｇＧ異化作用の促進に対する親和性成熟したＩｇＧ及び可溶性ＦＡＢの効果を示す（ビオチンＩｇＧ及び全ＩｇＧ）。
【図２９】図２９は、重鎖ではなく軽鎖に導入されたＭ９０－Ｆ１１生殖系の変化（太字で強調）を示す。
【図３０】図３０は、ＩｇＧのアロタイプ変異を示す。
【図３１】図３１は、Ｔｇ３２Ｂマウスにおけるｈ ＩｇＧの異化作用に対する、静脈内投与された抗ＦｃＲｎ抗体の効果を示す。
【図３２】図３２は、Ｔｇ３２Ｂマウスにおけるｈ ＩｇＧの異化作用に対する、皮下投与されたＭ１６１－Ｂ０４（ＤＸ２５０４）抗ＦｃＲｎ抗体の効果を示す。
【図３３】図３３は、カニクイザルにおけるｈ ＩｇＧの異化作用に対する、抗ＦｃＲｎ抗体の効果を示す。図３３Ａは、血液試料が採取された時間を示す。図３３Ｂは、抗ＦｃＲｎ抗体Ｍ１６１－Ｂ０４が投与されなかったときの総血清ＩｇＧ濃度を示す。
【図３４】図３４は、サルに５ｍｇ／ｋｇで静脈内（図３４Ａ）及び皮下（図３４Ｂ）投与されたＭ１６１－Ｂ０４抗ＦｃＲｎ抗体の効果を示す。個々のサルについてのデータが示される。
【図３５】図３５は、サルに２０ｍｇ／ｋｇで静脈内（図３５Ａ）及び皮下（図３５Ｂ）投与されたＭ１６１－Ｂ０４抗ＦｃＲｎ抗体の効果を示す。個々のサルについてのデータを示す。
【図３６】図３６は、サルに種々の濃度で静脈内及び皮下投与されたＭ１６１－Ｂ０４抗ＦｃＲｎ抗体の効果を示す（投与前に対してデータを正規化）。
【図３７】図３７は、サルにおける血清ＩｇＡ（図３７Ａ）、血清ＩｇＭ（図３７Ｂ）、及び血清アルブミン（図３７Ｃ）の濃度に対する静脈内及び皮下投与されたＭ１６１－Ｂ０４抗ＦｃＲｎ抗体の効果を示す（投与前に対してデータを正規化）。
【図３８】図３８は、ＤＸ－２５０４配列及びそのアラインメントを示す。
【発明を実施するための形態】
【０１１７】
正常な状況では、ＦｃＲｎは循環ＩｇＧの半減期を延長させることができる。ＦｃＲｎに結合する抗体を用いて、例えばＩｇＧとの相互作用を阻止することにより、ＦｃＲｎの機能を調節することができる。具体的には、ＦｃＲｎとＩｇＧとの相互作用をブロックする抗体を用いて、ＩｇＧ分子の半減期を短縮することができる。
【０１１８】
これら抗体及び関連ストラテジを用いて、多発性硬化症、炎症性腸疾患、関節リウマチ（ＲＡ）、及び全身性エリテマトーデス（ＳＬＥ）、又は本明細書に記載される別の自己免疫障害等の抗体仲介性自己免疫障害を治療及び更には予防することができる。拮抗性抗ラットＦｃＲｎモノクローナル抗体（ｍＡｂ）１Ｇ３は、３０ｍｇ／ｋｇの用量（即ち、ＭＧ、ＳＬＥ、及びＩＴＰの治療で用いられる静脈内ＩｇＧ（ＩＶＩＧ）よりも約１００倍低い）でラット受動型モデルにおける実験的自己免疫重症筋無力症（ＥＡＭＧ）を阻止することに成功した。更に、狼瘡又は関節炎等の自己免疫障害を遺伝的に発現しやすいＦ

ｃＲｎ欠損マウスは、疾患の重篤度が有意に低下した。したがって、抗ヒトＦｃＲｎブロッキング抗体は、ヒトにおける自己免疫障害の治療に対する治療可能性を有する。

【０１１９】

本開示は更に、とりわけ、自己免疫障害の治療及びＩｇＧの循環量の低下に利用可能なヒト拮抗性抗ヒトＦｃＲｎ抗体を提供する。また、抗原結合ドメインを通して結合し、ＩｇＧ－ＦｃとヒトＦｃＲｎ又はラットＦｃＲｎとの間の相互作用をブロックする能力を有する高親和性可溶性Ｆａｂ（ｓＦａｂ）の同定について開示する（ヒトＦｃＲｎ又はラットＦｃＲｎを過剰発現するよう改変された細胞株を用いて、可溶性タンパク質及び生細胞結合アッセイの両方で評価したとき）。ｓＦａｂは、ｐＨに依存せず、又はｐＨに依存して、例えばｐＨ６等の酸性ｐＨにて、結合及びブロックすることができる。ｓＦａｂは、ＩｇＧ抗体に変換することができる。

【０１２０】

定義

「結合タンパク質」とは、標的分子と相互作用することができるタンパク質を指す。この用語は「リガンド」と互換的に用いられる。「ＦｃＲｎ結合タンパク質」又は「ＦｃＲｎ結合リガンド」とは、ＦｃＲｎと相互作用することができるタンパク質を指し、特にＦｃＲｎ（例えば、ＩｇＧ）と優先的に相互作用するタンパク質を含む。

【０１２１】

本明細書中で用いる「抗体」とは、少なくとも１つの免疫グロブリン可変ドメイン又は免疫グロブリン可変ドメイン配列を含むタンパク質を意味する。例えば、抗体は重（Ｈ）鎖可変領域（本明細書ではＶＨと略す）と軽（Ｌ）鎖可変領域（本明細書ではＶＬと略す）を含み得る。別の例では、抗体は２つの重（Ｈ）鎖可変領域と２つの軽（Ｌ）鎖可変領域を含む。「抗体」という用語は、完全な抗体だけでなく、抗体の抗原結合断片（例えば、一本鎖抗体、Ｆａｂ及びｓＦａｂ断片、Ｆ（ａｂ’）$_2$、Ｆｄ断片、Ｆｖ断片、ｓｃＦｖ、及びｄＡｂ断片）も包含する。

【０１２２】

ＶＨ及びＶＬ領域は、「フレームワーク領域」（ＦＲ）と呼ばれる比較的保存された領域とともに間隔をおいて配置された、「相補性決定領域」（「ＣＤＲ」）と呼ばれる超可変性の領域に更に再分割することができる。フレームワーク領域とＣＤＲの範囲は正確に定義されている（Ｋａｂａｔ，Ｅ．Ａ．，ｅｔ ａｌ．（１９９１）Ｓｅｑｕｅｎｃｅｓ ｏｆ Ｐｒｏｔｅｉｎｓ ｏｆ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｉｃａｌ Ｉｎｔｅｒｅｓｔ，Ｆｉｆｔｈ Ｅｄｉｔｉｏｎ，Ｕ．Ｓ．Ｄｅｐａｒｔｍｅｎｔ ｏｆ Ｈｅａｌｔｈ ａｎｄ Ｈｕｍａｎ Ｓｅｒｖｉｃｅｓ，ＮＩＨ Ｐｕｂｌｉｃａｔｉｏｎ Ｎｏ．９１－３２４２、及びＣｈｏｔｈｉａ，Ｃ．ｅｔ ａｌ．（１９８７）Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．１９６：９０１－９１７、またｈｔｔｐ：／／ｗｗｗ．ｈｇｍｐ．ｍｒｃ．ａｃ．ｕｋを参照のこと）。本明細書ではＫａｂａｔの定義を用いる。各ＶＨ及びＶＬは典型的には３つのＣＤＲと４つのＦＲから成り、これらはアミノ末端からカルボキシ末端の方向に次の順序で配置されている：ＦＲ１、ＣＤＲ１、ＦＲ２、ＣＤＲ２、ＦＲ３、ＣＤＲ３、ＦＲ４。

【０１２３】

全長抗体の「抗原結合断片」（又は単純に「抗体部分」若しくは「断片」）とは、本明細書中で用いるとき、対象の標的と特異的に結合する能力を保持する、全長抗体の１以上の断片を指す。全長抗体の「抗原結合断片」という用語に包含される結合断片の例としては、（ｉ）Ｆａｂ断片、即ちＶＬ、ＶＨ、ＣＬ及びＣＨ１ドメインから成る一価断片；（ｉｉ）Ｆ（ａｂ’）$_2$断片、即ちヒンジ領域でジスルフィド結合により連結された２つのＦａｂ断片を含む二価断片；（ｉｉｉ）ＶＨ及びＣＨ１ドメインから成るＦｄ断片；（ｉｖ）抗体の単一アームのＶＬ及びＶＨドメインから成るＦｖ断片；（ｖ）ｄＡｂ断片（Ｗａｒｄ ｅｔ ａｌ．，（１９８９）Ｎａｔｕｒｅ ３４１：５４４－５４６）（ＶＨドメインから成る）；及び（ｖｉ）官能価を保持する単離された相補性決定領域（ＣＤＲ）。更に、Ｆｖ断片の２つのドメインであるＶＬとＶＨは別個の遺伝子によってコードされ

るが、組換え法を用いて、合成リンカーによってそれらを結合させることができる。かかる合成リンカーは、両ドメインを単一のタンパク質（ＶＬ及びＶＨ領域が対合して、一本鎖Ｆｖ（ｓｃＦｖ）として知られる一価分子を形成する）として作製することを可能にする。例えば、Ｂｉｒｄ ｅｔ ａｌ．，（１９８８）Ｓｃｉｅｎｃｅ ２４２：４２３－４２６；及びＨｕｓｔｏｎ ｅｔ ａｌ．，（１９８８）Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ８５：５８７９－５８８３を参照のこと。

【０１２４】

抗体断片は当業者に知られた従来の方法を含む任意の適切な方法を使って得ることができる。「単一特異的抗体」という用語は、特定の標的（例えば、エピトープ）に対して単一の結合特異性及び親和性を示す抗体を意味する。この用語は「モノクローナル抗体」又は「モノクローナル抗体組成物」を含み、本明細書中で用いるとき、単一分子組成の抗体又はその断片の調製物を指す。本明細書中で用いる「アイソタイプ」とは、重鎖定常領域遺伝子によりコードされる抗体クラス（例えば、ＩｇＭ又はＩｇＧｌ）を指す。

【０１２５】

本明細書中で用いる「結合親和性」とは、見かけの結合定数つまりK_aを意味する。K_aは解離定数（K_d）の逆数である。結合タンパク質は、例えば、特定の標的分子に対して少なくとも10^{-5}、10^{-6}、10^{-7}、10^{-8}、10^{-9}、10^{-10}、及び10^{-11}Ｍの結合親和性を有する。第２標的に比して第１標的への結合リガンドのより高い親和性結合は、第２標的への結合のK_a（又は数値K_d）より、第１標的への結合のK_aが高い（又は数値K_dが小さい）ことにより示される。そのような場合に、結合タンパク質は第２標的（例えば、第２立体配座の同タンパク質又はその模倣体；又は第２のタンパク質）よりも第１標的（例えば、第１立体配座のタンパク質又はその模倣体）に対して特異性を有する。結合親和性（例えば、特異性又は他の匹敵するものに対する）の差は少なくとも１．５、２、３、４、５、１０、１５、２０、５０、７０、８０、１００、５００、１０００、又は10^5倍であり得る。

【０１２６】

結合親和性は、平衡透析、平衡結合、ゲル濾過、ＥＬＩＳＡ、表面プラズモン共鳴、又は分光法（例えば、蛍光検定を使用する）を含む、様々な方法で測定することができる。結合親和性を評価するための典型的な条件は、ｐＨ７．２のＰＢＳ（リン酸緩衝食塩水）中３０℃である。こうした方法を用いて、結合した及び遊離の結合タンパク質の濃度を、結合タンパク質（又は標的）濃度の関数として測定することができる。結合した結合タンパク質の濃度（「結合」）は、以下の式により、遊離の結合タンパク質の濃度（［遊離］）と標的上の結合タンパク質の結合部位の濃度に関連付けられる（式中、Ｎは標的分子あたりの結合部位の数である）：

［結合］＝Ｎ・［遊離］／（（１／Ｋａ）＋［遊離］）

【０１２７】

しかし、K_aの正確な測定を行うことが常に必要であるとは限らない。なぜなら、往々にして、それは、親和性の定量的測定（例えば、ＥＬＩＳＡ又はＦＡＣＳ分析のような方法を用いて測定される）を得るのに十分であり、K_aに比例しており、それゆえに、より高い親和性が例えば２倍高いかどうかを確認するといった比較のために使用して、親和性の定性的測定を得たり、或いは、例えば機能アッセイ（例えば、インビトロ又はインビボアッセイ）での活性により、親和性の推測を得たりすることができるからである。

【０１２８】

「コグネイトリガンド（ｃｏｇｎａｔｅ ｌｉｇａｎｄ）」とは、ＦｃＲｎの天然に存在するリガンドを指し、その天然に存在する変異体（例えば、スプライス変異体、天然の突然変異体、及びイソ型）も含まれる。

【０１２９】

「保存的アミノ酸置換」は、アミノ酸残基を、類似の側鎖をもつアミノ酸残基で置換することである。類似の側鎖をもつアミノ酸残基のファミリーは当技術分野で定義されている。これらのファミリーには以下のものが含まれる：塩基性側鎖を有するアミノ酸（例え

ば、リシン、アルギニン、ヒスチジン）、酸性側鎖を有するアミノ酸（例えば、アスパラギン酸、グルタミン酸）、非荷電極性側鎖を有するアミノ酸（例えば、グリシン、アスパラギン、グルタミン、セリン、トレオニン、チロシン、システイン）、非極性側鎖を有するアミノ酸（例えば、アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、プロリン、フェニルアラニン、メチオニン、トリプトファン）、β－分枝側鎖を有するアミノ酸（例えば、トレオニン、バリン、イソロイシン）、及び芳香族側鎖を有するアミノ酸（例えば、チロシン、フェニルアラニン、トリプトファン、ヒスチジン）。多くのフレームワーク及びＣＤＲアミノ酸残基には１以上の保存的置換を含むことが可能である。

【０１３０】

生体高分子のコンセンサス配列は、各種アミノ酸間で変化させることのできる位置を含むことができる。例えば、そのような場合に記号「Ｘ」は、一般に、任意のアミノ酸（例えば、２０種類の天然アミノ酸のいずれか、又はシステイン以外の１９種類のアミノ酸のいずれか）を意味する。許容される他のアミノ酸はまた、例えば、丸括弧とスラッシュを使って、示すこともできる。例えば、「（Ａ／Ｗ／Ｆ／Ｎ／Ｑ）」は、アラニン、トリプトファン、フェニルアラニン、アスパラギン、及びグルタミンがその特定の位置において許容されることを意味する。

【０１３１】

「実質的にヒトである」免疫グロブリン可変領域は、その免疫グロブリン可変領域が正常なヒトにおいて免疫原反応を誘発しないように、十分な数のヒトフレームワークアミノ酸位置を含む免疫グロブリン可変領域のことである。「実質的にヒトである」抗体は、その抗体が正常なヒトにおいて免疫原反応を誘発しないように、十分な数のヒトアミノ酸位置を含む抗体のことである。

【０１３２】

「エピトープ」とは、結合タンパク質（例えば、Ｆａｂ又は全長抗体等の抗体）が結合する標的化合物上の部位を指す。標的化合物がタンパク質である場合には、その部位は完全にアミノ酸成分から構成されるか、完全に該タンパク質のアミノ酸の化学的修飾物（例えば、グリコシル部分）で構成されるか、又はそれらの組合せにより構成される。重複するエピトープは少なくとも１個の共通のアミノ酸残基を含む。

【０１３３】

２つの配列間の「相同性」又は「配列同一性」（これらの用語は本明細書では互換的に用いられる）の計算は次のように行われる。最適な比較を目的として配列のアライメントを行う（例えば、最適なアラインメントのために第１及び第２のアミノ酸又は核酸配列の一方又は両方にギャップを導入することができ、また比較のために非相同配列を無視することができる）。ＧＣＧソフトウェアパッケージ中のＧＡＰプログラムを用いて、ギャップペナルティー１２、ギャップ伸張ペナルティー４、及びフレームシフトギャップペナルティー５にて、Ｂｌｏｓｕｍ６２スコアリングマトリックスにより最良のスコアとして最適なアライメントを決定する。その後、対応するアミノ酸位置のアミノ酸残基又は対応するヌクレオチド位置のヌクレオチドを比較する。第１配列のある位置に、第２配列の対応する位置と同じアミノ酸残基又はヌクレオチドが存在する場合には、これらの分子はその位置で同一となる（本明細書中で用いるアミノ酸又は核酸「同一性」は、アミノ酸又は核酸「相同性」に等しい）。２つの配列間の同一性パーセントは、両配列により共有される同一位置の数の関数である。

【０１３４】

１つの実施形態において、比較のためにアライメントが行われる参照配列の長さは、該参照配列の長さの少なくとも３０％、少なくとも４０％、少なくとも５０％、少なくとも６０％、少なくとも７０％、８０％、９０％、９２％、９５％、９７％、９８％、又は１００％である。例えば、参照配列は免疫グロブリン可変ドメイン配列の長さであってよい。

【０１３５】

「ヒト化」免疫グロブリン可変領域は、その免疫グロブリン可変領域が正常なヒトにお

いて免疫原反応を誘発しないように、十分な数のヒトフレームワークアミノ酸位置を含むよう改変されている免疫グロブリン可変領域のことである。「ヒト化」免疫グロブリンの記述は、例えば米国特許第６，４０７，２１３号及び同第５，６９３，７６２号に見出せる。

【０１３６】

本明細書中で用いる「低度のストリンジェンシー、中度のストリンジェンシー、高度のストリンジェンシー、又は非常に高度のストリンジェンシーの条件下でハイブリダイズする」という用語は、ハイブリダイゼーションと洗浄の条件を説明している。ハイブリダイゼーションを行うための指針は、Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ，Ｊｏｈｎ Ｗｉｌｅｙ＆Ｓｏｎｓ，Ｎ．Ｙ．（１９８９），６．３．１－６．３．６に見出すことができ、前記文献を引用により本明細書に組み込むものとする。この文献には水性方法と非水性方法が記載されており、どちらも使用することができる。本明細書で言うところの具体的なハイブリダイゼーション条件は次のとおりである：（１）低度のストリンジェンシーのハイブリダイゼーション条件、約４５℃にて６×塩化ナトリウム／クエン酸ナトリウム（ＳＳＣ）、続いて少なくとも５０℃にて０．２×ＳＳＣ、０．１％ ＳＤＳで２回洗浄（低ストリンジェンシー条件の場合は、洗浄温度を５５℃に上げてもよい）；（２）中度のストリンジェンシーのハイブリダイゼーション条件、約４５℃にて６×ＳＳＣ、続いて６０℃にて０．２×ＳＳＣ、０．１％ ＳＤＳで１回以上洗浄；（３）高度のストリンジェンシーのハイブリダイゼーション条件、約４５℃にて６×ＳＳＣ、続いて６５℃にて０．２×ＳＳＣ、０．１％ ＳＤＳで１回以上洗浄；及び（４）非常に高度のストリンジェンシーのハイブリダイゼーション条件、６５℃にて０．５Ｍ リン酸ナトリウム、７％ ＳＤＳ、続いて６５℃にて０．２×ＳＳＣ、１％ ＳＤＳで１回以上洗浄。非常に高度のストリンジェンシー条件（４）が好適な条件であり、特に明記しない限りこれを使用すべきである。本開示は、本明細書に記載する核酸又はその相補体（例えば、本明細書に記載する結合タンパク質をコードする核酸）に低度、中度、高度又は非常に高度のストリンジェンシー条件下でハイブリダイズする核酸を包含する。これらの核酸は同じ長さであっても、参照核酸の長さの３０、２０、又は１０％以内であってもよい。その核酸は免疫グロブリン可変ドメイン配列をコードする領域に相当し得る。

【０１３７】

ＦｃＲｎ結合タンパク質は、本明細書に記載する結合タンパク質に対して、該タンパク質の機能に重大な影響を及ぼさない突然変異（例えば、保存的アミノ酸置換又は非必須アミノ酸置換）を含んでいてもよい（例えば少なくとも１、２、若しくは４、及び／又は１５、１０、５、若しくは３未満）。特定の置換が許容されるかどうか、即ち、生物学的特性（例えば、結合活性）に有害な影響を与えないかどうかは、例えば、Ｂｏｗｉｅ ｅｔ ａｌ．，（１９９０）Ｓｃｉｅｎｃｅ ２４７：１３０６－１３１０に記載の方法を用いて予測することができる。

【０１３８】

「免疫グロブリンドメイン」とは、免疫グロブリン分子の可変ドメイン又は定常ドメインに由来するドメインを指す。免疫グロブリンドメインは典型的には、約７本のβ鎖から形成された２つのβシートと、保存されたジスルフィド結合とを含む（例えば、Ａ．Ｆ．Ｗｉｌｌｉａｍｓ ａｎｄ Ａ．Ｎ．Ｂａｒｃｌａｙ １９８８ Ａｎｎ．Ｒｅｖ Ｉｍｍｕｎｏｌ．６：３８１－４０５を参照のこと）。

【０１３９】

本明細書中で用いる「免疫グロブリン可変ドメイン配列」とは、１つ以上のＣＤＲ領域が抗原結合部位に好適な立体構造で配置されるように、免疫グロブリン可変ドメインの構造を形成することができるアミノ酸配列を指す。例えば、この配列は天然の可変ドメインのアミノ酸配列の全部又は一部を含み得る。例えば、この配列は１個、２個又はそれ以上のＮ－若しくはＣ－末端アミノ酸、内部アミノ酸を欠失していてもよく、１個以上の挿入又は追加の末端アミノ酸を含んでいてもよく、その他の改変を含んでいてもよい。１つの

実施形態では、免疫グロブリン可変ドメイン配列を含むポリペプチドを別の免疫グロブリン可変ドメイン配列と結合させて、標的結合構造（つまり「抗原結合部位」）、例えば、ＦｃＲｎ構造に対して優先的に相互作用する構造を形成することができる。

【０１４０】

抗体のＶＨ鎖及びＶＬ鎖は重鎖若しくは軽鎖定常領域の全部又は一部を更に含むことができ、それにより、それぞれ重免疫グロブリン鎖又は軽免疫グロブリン鎖が形成される。１つの実施形態では、抗体は２本の重免疫グロブリン鎖と２本の軽免疫グロブリン鎖から成る四量体であり、そこでは、重免疫グロブリン鎖と軽免疫グロブリン鎖は、例えばジスルフィド結合によって、相互に連結される。重鎖定常領域は３つのドメイン、即ちＣＨ１、ＣＨ２及びＣＨ３を含む。軽鎖定常領域は１つのＣＬドメインを含む。重鎖及び軽鎖の可変領域は抗原と相互作用する結合ドメインを含む。抗体の定常領域は一般に、抗体が宿主の組織又は因子（免疫系の各種細胞（例えば、エフェクター細胞）及び古典的補体系の第１成分（Ｃｌｑ）を含む）に結合するのを仲介する。「抗体」という用語は、ＩｇＡ、ＩｇＧ、ＩｇＥ、ＩｇＤ、ＩｇＭタイプ（並びにそのサブタイプ）のインタクトな免疫グロブリンを包含する。免疫グロブリンの軽鎖はκ又はλタイプのものであり得る。１つの実施形態では、抗体がグリコシル化されている。抗体は抗体依存性細胞傷害及び／又は補体媒介細胞傷害に対して機能的であり得る。

【０１４１】

抗体の１以上の領域はヒト又は実質的にヒトであり得る。例えば、可変領域の１以上がヒト又は実質的にヒトであり得る。例えば、ＣＤＲ（例えば、ＨＣ　ＣＤＲ１、ＨＣ　ＣＤＲ２、ＨＣ　ＣＤＲ３、ＬＣ　ＣＤＲ１、ＬＣ　ＣＤＲ２、及びＬＣ　ＣＤＲ３）の１以上がヒトであり得る。軽鎖ＣＤＲのそれぞれがヒトであり得る。ＨＣ　ＣＤＲ３がヒトであり得る。フレームワーク領域（例えば、ＨＣ又はＬＣのＦＲ１、ＦＲ２、ＦＲ３、及びＦＲ４）の１以上がヒトであり得る。１つの実施形態では、全てのフレームワーク領域がヒトであり、例えばヒト体細胞（例えば、免疫グロブリンを産生する造血細胞又は非造血細胞）由来である。１つの実施形態において、ヒト配列は生殖系列配列であり、例えば生殖系列核酸によりコードされるものである。定常領域の１つ以上はヒト又は実質的にヒトであり得る。１つの実施形態では、抗体の少なくとも７０、７５、８０、８５、９０、９２、９５、又は９８％、または全抗体がヒト又は実質的にヒトであり得る。

【０１４２】

抗体の全部又は一部は免疫グロブリン遺伝子又はそのセグメントによりコードされる。代表的なヒト免疫グロブリン遺伝子には、κ、λ、α（ＩｇＡ１及びＩｇＡ２）、γ（ＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３、ＩｇＧ４）、δ、ε、及びμ定常領域遺伝子、並びに無数の免疫グロブリン可変領域遺伝子が含まれる。全長免疫グロブリン「軽鎖」（約２５ＫＤａ又は２１４アミノ酸）は、ＮＨ２－末端の可変領域遺伝子（約１１０アミノ酸）とＣＯＯＨ末端のκ又はλ定常領域遺伝子によってコードされる。全長免疫グロブリン「重鎖」（約５０ＫＤａ又は４４６アミノ酸）は、同様に、可変領域遺伝子（約１１６アミノ酸）と他の前記定常領域遺伝子の１つ、例えばγ（約３３０アミノ酸をコードする）によってコードされる。

【０１４３】

「単離された組成物」とは、該組成物を得ることができる天然試料の少なくとも１つの成分の少なくとも９０％から分離されている組成物を意味する。人工的又は天然に得られる組成物は、対象の種又は種の集団が重量－重量基準で少なくとも５、１０、２５、５０、７５、８０、９０、９２、９５、９８、又は９９％純粋である場合、少なくともある純度の組成物であり得る。

【０１４４】

「模倣体」とは、ＦｃＲｎ又はその一部の立体配座の模倣体という文脈では、天然に存在するＦｃＲｎ又はその一部と比べて、少なくとも１つの特定の立体配座をとる傾向がある改変型ＦｃＲｎを指す。

【０１４５】

「非必須」アミノ酸残基は、生物学的活性を完全に消失させることなく、生物学的活性を実質的に改変させることなく、結合物質（例えば、抗体）の野生型配列から改変させることのできる残基であり、一方「必須」アミノ酸残基はそのような変化をもたらすものである。

【０１４６】

本明細書中で用いる「非経口投与」及び「非経口的に投与する」とは、経腸及び局所（外用）投与以外の投与様式を意味し、通常注射により行われ、例えば限定されないが、静脈内、筋肉内、動脈内、嚢内、包内、眼窩内、心臓内、皮内、腹腔内、経気管、皮下、表皮下、関節内、被膜下、クモ膜下、脊髄内、硬膜外、及び胸骨下注射及び注入が挙げられる。

【０１４７】

「ポリペプチド」又は「ペプチド」（これらは互換的に用いられる）とは、ペプチド結合で連結された３個以上のアミノ酸、例えば３～３０アミノ酸、１２～６０アミノ酸、若しくは３０～３００アミノ酸、又は３００アミノ酸を上回る長さの高分子を意味する。ポリペプチドは１個以上の非天然アミノ酸を含んでいてもよい。典型的には、ポリペプチドは天然アミノ酸のみを含む。「タンパク質」は１本以上のポリペプチド鎖を含み得る。したがって、「タンパク質」という用語はポリペプチドを包含する。タンパク質又はポリペプチドは１以上の修飾、例えばグリコシル化、アミド化、リン酸化、ニトロシル化等を含んでいてもよい。「小ペプチド」という用語は、長さが３～３０アミノ酸（例えば、８～２４アミノ酸）のポリペプチドを表すために用いられる。

【０１４８】

「予防に有効な量」とは、所望の予防結果を達成するのに必要な投与量及び時間で、所望の予防結果を達成するのに有効な量を指す。一般的には、予防量は疾患に先立って又はその初期に用いられるので、予防に有効な量は治療に有効な量よりも少なくなる。

【０１４９】

本明細書中で用いる「実質的に同一」（又は「実質的に相同」）とは、第１のアミノ酸又は核酸配列が第２のアミノ酸又は核酸配列と同一の若しくは同等の（例えば類似の側鎖をもつ、例えば保存されたアミノ酸置換）アミノ酸残基又はヌクレオチドを十分な数含み、その結果、第１及び第２のアミノ酸又は核酸配列が同様の活性、例えば結合活性、結合優先性、又は生物学的活性を示す（又は、かかる活性を示すタンパク質をコードする）ことを意味する。抗体の場合には、第２の抗体が同様の特異性を有し且つ同一の抗原に対して少なくとも５０％の親和性を有する。

【０１５０】

本明細書に開示する配列に類似の又は相同の配列（例えば、少なくとも約８５％の配列同一性を有する配列）もまた本出願の一部である。ある実施形態では、配列同一性が約８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％又はそれ以上であり得る。更に、実質的な同一性は、例えば、核酸セグメントが該核酸鎖の相補体に選択的ハイブリダイゼーション条件（例えば、高度にストリンジェントなハイブリダイゼーション条件）下でハイブリダイズする場合にも、存在する。核酸は細胞全体内に、細胞溶解液中に、又は部分的に精製された形態若しくは実質的に純粋な形態で存在し得る。

【０１５１】

統計的有意差は、当技術分野で既知の方法により求めることができる。代表的な統計学的検定には、スチューデントのＴ検定、Ｍａｎｎ　ＷｈｉｔｎｅｙのＵノンパラメトリック検定、及びＷｉｌｃｏｘｏｎのノンパラメトリック統計検定が含まれる。幾つかの統計的に有意な関係は、０．０５又は０．０２未満のＰ値を有する。特定の結合タンパク質は、統計的に有意（例えば、Ｐ値＜０．０５又は０．０２）な差（例えば、特異性又は結合の差）を示し得る。「誘発する」、「阻害する」、「増強する」、「高める」、「増加する」、「低下する」等の用語は、２つの状態間の識別可能な量的又は質的な相違を表し、これら２つの状態間の差（例えば、統計的有意差）を指すことができる。

【０１５２】
「治療に有効な投与量」は、未治療の対象と比べて、測定可能なパラメーター（例えば、循環ＩｇＧ抗体の量）を統計的に有意な程度、又は少なくとも約２０％、少なくとも約４０％、少なくとも６０％、若しくは少なくとも８０％調節する。測定可能なパラメーター（例えば、自己免疫）を調節する化合物の能力は、ヒト自己免疫障害における効果を予測できるモデル動物系で評価することができる。或いは、組成物のこの性質は、化合物のパラメータを調節する能力を、例えば当業者に既知のアッセイによりインビトロで試験することにより評価することもできる。

【０１５３】
本発明の他の構成及び効果は、以下の詳細な説明及び特許請求の範囲から明らかになるであろう。本発明の実施形態は本明細書に記載する特徴の任意の組合せを含み得る。いかなる場合にも、「実施形態」という用語は、本明細書に開示する１以上の他の特徴を除外するものではない。

【０１５４】
ＦｃＲｎ配列
以下の配列アラインメントは、ヒトＦｃＲｎα鎖のアミノ酸配列と、ラットＦｃＲｎα鎖のアミノ酸配列とのアラインメントである。例示的なＦｃＲｎタンパク質は、これら２つの配列、又はこれらの断片のうちの１つ、例えばシグナル配列を含まない断片を含んでもよい。

【化１】

シグナル配列　　α_1ドメイン
α_ヒト:　MGVPRPQPWALGLLLFLLPGSLG AESHLSLLYHLTAVSSPAPGTPAFWVSGWLGPQQYLS
α_ラット:　MGMSQPGV-LLSLLLVLLPQTWG AEPRLPLMYHLAAVSDLSTGLPSFWATGWLGAQQYLT
α_1ドメイン　　α_2ドメイン
α_ヒト:　YNSLRGEAEPCGAWVWENQVSWYWEKETTDLRIKEKLFLEAFKALGGK--GP YTLQGLLG
α_ラット:　YNNLRQEADPCGAWIWENQVSWYWEKETTDLKSKEQLFLEAIRTLENQINGT FTLQGLLG
α_2ドメイン
α_ヒト:　CELGPDNTSVPTAKFALNGEEFMNFDLKQGTWGGDWPEALAISQRWQQQDKAANKELTFL
α_ラット:　CELAPDNSSLPTAVFALNGEEFMRFNPRTGNWSGEWPETDIVGNLWMKQPEAARKESEFL
α_2ドメイン　　α_3ドメイン
α_ヒト:　LFSCPHRLREHLERGRGNLEWK EPPSMRLKARPSSPGFSVLTCSAFSFYPPELQLRFLRN
α_ラット:　LTSCPERLLGHLERGRQNLEWK EPPSMRLKARPGNSGSSVLTCAAFSFYPPELKFRFLRN
α_3ドメイン
α_ヒト:　GLAAGTGQGDFGPNSDGSFHASSSLTVKSGDEHHYCCIVQHAGLAQPLRVELE
α_ラット:　GLASGSGNCSTGPNGDGSFHAWSLLEVKRGDEHHYQCQVEHEGLAQPLTVDLD
膜貫通　　細胞質ドメイン
α_ヒト:　SPAKSSVLVVGIVIGVLLLTAAAVGGALLW RRMRSGLPAPWISLRGDDTGVLLPTPGEAQ
α_ラット:　SPARSSVPVVGIILGLLLVVVAIAGGVLLW NRMRSGLPAPWLSLSGDDSGDLLPGGNLPP

α_ヒト:　DADLKDVNVIPATA （配列番号１）
α_ラット:　EAEPQGVNAFPATS （配列番号２）

【０１５５】
以下の配列アラインメントは、ヒトβ２マイクログロブリンのアミノ酸配列と、ラットβ２マイクログロブリンのアミノ酸配列とのアラインメントである。例示的ＦｃＲｎタンパク質は、これら２つの配列、又はこれらの断片のうちの１つ、例えばシグナル配列を含まない断片を含んでもよい。

【化２】

シグナル配列　　β２マイクログロブリン

β２m_ヒト:　MSRSVALAVLALLSLSGLEA IQRTPKIQVYSRHPAENGKSNFLNCYVSGFHPSDIEVDLL

β２m_ラット: MARSVTVIFLVLVSLAVVLA IQKTPQIQVYSRHPPENGKPNFLNCYVSQFHPPQIEIELL

β２マイクログロブリン

β２m_ヒト:　KNGERIEKVEHSDLSFSKDWSFYLLYYTEFTPTEKDEYACRVNHVTLSQPKIVKWDRDM（配列番号３）

β２m_ラット: KNGKKIPNIEMSDLSFSKDWSFYILAHTEFTPTETDVYACRVKHVTLKEPKTVTWDRDM（配列番号４）

【０１５６】

ＦｃＲｎタンパク質α鎖をコードする例示的核酸配列は、以下の配列を含み得る。

ＦｃＲｎαヌクレオチド配列　Ｈｏｍｏ　ｓａｐｉｅｎｓ

【化３】

GTTCTTCAGGTACGAGGAGGGCATTGTTGTCAGTCTGGACCGAGCCCGCAGAGCCCCTCCTCGGCGTCCT
GGTCCCGGCCGTGCCCGCGGTGTCCCGGGAGGAAGGGGCGGGCCGGGGGTCGGGAGGAGTCACGTGCCCC
CTCCCGCCCCAGGTCGTCCTCTCAGCATGGGGGTCCCGCGGCCTCAGCCCTGGGCGCTGGGGCTCCTGCT
CTTTCTCCTTCCTGGGAGCCTGGGCGCAGAAAGCCACCTCTCCCTCCTGTACCACCTTACCGCGGTGTCC
TCGCCTGCCCCGGGGACTCCTGCCTTCTGGGTGTCCGGCTGGCTGGGCCCGCAGCAGTACCTGAGCTACA
ATAGCCTGCGGGGCGAGGCGGAGCCCTGTGGAGCTTGGGTCTGGGAAAACCAGGTGTCCTGGTATTGGGA
GAAAGAGACCACAGATCTGAGGATCAAGGAGAAGCTCTTTCTGGAAGCTTTCAAAGCTTTGGGGGGAAAA
GGTCCCTACACTCTGCAGGGCCTGCTGGGCTGTGAACTGGGCCCTGACAACACCTCGGTGCCCACCGCCA
AGTTCGCCCTGAACGGCGAGGAGTTCATGAATTTCGACCTCAAGCAGGGCACCTGGGGTGGGGACTGGCC
CGAGGCCCTGGCTATCAGTCAGCGGTGGCAGCAGCAGGACAAGGCGGCCAACAAGGAGCTCACCTTCCTG
CTATTCTCCTGCCCGCACCGCCTGCGGGAGCACCTGGAGAGGGGCCGCGGAAACCTGGAGTGGAAGGAGC
CCCCCTCCATGCGCCTGAAGGCCCGACCCAGCAGCCCTGGCTTTTCCGTGCTTACCTGCAGCGCCTTCTC
CTTCTACCCTCCGGAGCTGCAACTTCGGTTCCTGCGGAATGGGCTGGCCGCTGGCACCGGCCAGGGTGAC
TTCGGCCCCAACAGTGACGGATCCTTCCACGCCTCGTCGTCACTAACAGTCAAAAGTGGCGATGAGCACC
ACTACTGCTGCATTGTGCAGCACGCGGGGCTGGCGCAGCCCCTCAGGGTGGAGCTGGAATCTCCAGCCAA
GTCCTCCGTGCTCGTGGTGGGAATCGTCATCGGTGTCTTGCTACTCACGGCAGCGGCTGTAGGAGGAGCT
CTGTTGTGGAGAAGGATGAGGAGTGGGCTGCCAGCCCCTTGGATCTCCCTTCGTGGAGACGACACCGGGG
TCCTCCTGCCCACCCCAGGGGAGGCCCAGGATGCTGATTTGAAGGATGTAAATGTGATTCCAGCCACCGC
CTGACCATCCGCCATTCCGACTGCTAAAAGCGAATGTAGTCAGGCCCCTTTCATGCTGTGAGACCTCCTG
GAACACTGGCATCTCTGAGCCTCCAGAAGGGGTTCTGGGCCTAGTTGTCCTCCCTCTGGAGCCCCGTCCT
GTGGTCTGCCTCAGTTTCCCCTCCTAATACATATGGCTGTTTTCCACCTCGATAATATAACACGAGTTTG
GGCCCGAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA（配列番号５）

【０１５７】

例示的ヒトＦｃＲｎ（細胞外ドメイン）の核酸配列＋ＧＰＩ　ＤＮＡ配列（小文字、太字）を以下に示す。

【化４】

ATGGGGGTCCCGCGGCCTCAGCCCTGGGCGCTGGGGCTCCTGCTCTTTCTCCTTCCTGGGAGCCTGGGCG
CAGAAAGCCACCTCTCCCTCCTGTACCACCTTACCGCGGTGTCCTCGCCTGCCCCGGGGACTCCTGCCTT
CTGGGTGTCCGGCTGGCTGGGCCCGCAGCAGTACCTGAGCTACAATAGCCTGCGGGGCGAGGCGGAGCCC
TGTGGAGCTTGGGTCTGGGAAAACCAGGTGTCCTGGTATTGGGAGAAAGAGACCACAGATCTGAGGATCAA
GGAGAAGCTCTTTCTGGAAGCTTTCAAAGCTTTGGGGGGAAAAGGTCCCTACACTCTGCAGGGCCTGCTGG
GCTGTGAACTGGGCCCTGACAACACCTCGGTGCCCACCGCCAAGTTCGCCCTGAACGGCGAGGAGTTCATG
AATTTCGACCTCAAGCAGGGCACCTGGGGTGGGGACTGGCCCGAGGCCCTGGCTATCAGTCAGCGGTGGCA
GCAGCAGGACAAGGCGGCCAACAAGGAGCTCACCTTCCTGCTATTCTCCTGCCCGCACCGCCTGCGGGAGC
ACCTGGAGAGGGGCCGCGGAAACCTGGAGTGGAAGGAGCCCCCCTCCATGCGCCTGAAGGCCCGACCCAGC
AGCCCTGGCTTTTCCGTGCTTACCTGCAGCGCCTTCTCCTTCTACCCTCCGGAGCTGCAACTTCGGTTCCT
GCGGAATGGGCTGGCCGCTGGCACCGGCCAGGGTGACTTCGGCCCCAACAGTGACGGATCCTTCCACGCCT
CGTCGTCACTAACAGTCAAAAGTGGCGATGAGCACCACTACTGCTGCATTGTGCAGCACGCGGGGCTGGCG
CAGCCCCTCAGGGTGGAGCTGGAATCTCCAGCCAAGTCCTCC**cggccgctcgacgggctacgagcatcagt**
aacactactaggcgcaggcctactactatcactactaccagcactactacgatttgggccataa
（配列番号６）

【０１５８】

β－２－マイクログロブリン（β２Ｍ）をコードする例示的核酸配列は、以下の配列を含み得る。

【化５】

AATATAAGTGGAGGCGTCGCGCTGGCGGGCATTCCTGAAGCTGACAGCATTCGGGCCGAGATGTCTCGCT
CCGTGGCCTTAGCTGTGCTCGCGCTACTCTCTCTTTCTGGCCTGGAGGCTATCCAGCGTACTCCAAAGAT
TCAGGTTTACTCACGTCATCCAGCAGAGAATGGAAAGTCAAATTTCCTGAATTGCTATGTGTCTGGGTTT
CATCCATCCGACATTGAAGTTGACTTACTGAAGAATGGAGAGAGAATTGAAAAAGTGGAGCATTCAGACT
TGTCTTTCAGCAAGGACTGGTCTTTCTATCTCTTGTACTACACTGAATTCACCCCCACTGAAAAAGATGA
GTATGCCTGCCGTGTGAACCATGTGACTTTGTCACAGCCCAAGATAGTTAAGTGGGATCGAGACATGTAA
GCAGCATCATGGAGGTTTGAAGATGCCGCATTTGGATTGGATGAATTCCAAATTCTGCTTGCTTGCTTTT
TAATATTGATATGCTTATACACTTACACTTTATGCACAAAATGTAGGGTTATAATAATGTTAACATGGAC
ATGATCTTCTTTATAATTCTACTTTGAGTGCTGTCTCCATGTTTGATGTATCTGAGCAGGTTGCTCCACA
GGTAGCTCTAGGAGGGCTGGCAACTTAGAGGTGGGGAGCAGAGAATTCTCTTATCCAACATCAACATCTT
GGTCAGATTTGAACTCTTCAATCTCTTGCACTCAAAGCTTGTTAAGATAGTTAAGCGTGCATAAGTTAAC
TTCCAATTTACATACTCTGCTTAGAATTTGGGGGAAAATTTAGAAATATAATTGACAGGATTATTGGAAA
TTTGTTATAATGAATGAAACATTTTGTCATATAAGATTCATATTTACTTCTTATACATTTGATAAAGTAA
GGCATGGTTGTGGTTAATCTGGTTTATTTTTGTTCCACAAGTTAAATAAATCATAAAACTTGATGTGTTA
TCTCTTA（配列番号７）

【０１５９】

マウス抗ヒトＦｃＲｎ抗体

抗体の構造及び配列

本発明は、少なくとも１つのＦｃＲｎエピトープに特異的に結合する抗体であって、前記抗体がＦｃＲｎエピトープに結合することにより、ＦｃＲｎに対するＩｇＧのＦｃ部分の結合が阻害される抗体に関する。したがって本発明は、ＦｃＲｎブロッキング抗体に関する。ブロッキング抗体は、ＩｇＧ、ＩｇＭ、ＩｇＡ、ＩｇＤ、又はＩｇＥであり得る。１つの実施形態では、ブロッキング抗体はＩｇＧである。１つの実施形態では、本発明の抗体は、$10^{10}M^{-1}$の結合親和性を有する。別の実施形態では、本発明の抗体は、$10^{11}M^{-1}$の結合親和性を有する。

【０１６０】

１つの実施形態では、本発明は、３Ｂ３．１１ハイブリドーマ、３１．１ハイブリドーマ、４Ｂ４．１２ハイブリドーマ、又は１７Ｄ３ハイブリドーマにより産生されるモノク

ローナル抗体に関する。

【０１６１】

１つの実施形態では、本発明は、ＦｃＲｎ線状エピトープに結合する抗体に関する。別の実施形態では、本発明は、ＦｃＲｎ立体構造エピトープに結合する抗体に関する。１つの実施形態では、本発明の抗体は、ＥＰＰＳＭＲＬＫＡＲ（配列番号１０５）又はその断片を含むアミノ酸配列に結合する。別の実施形態では、本発明の抗体は、ＣＳＡＦＹＰＰＥＬＱＬＲＦＦＬＲＮＧＬ（配列番号１０６）又はその断片を含むアミノ酸配列に結合する。

【０１６２】

特定の実施形態では、本発明の抗体は、３Ｂ３．１１及び３１．１により認識されるエピトープと同じエピトープに特異的に反応する。かかる抗体は、競合結合アッセイで決定され得る。

【０１６３】

本発明の抗ＦｃＲｎ抗体の例示的実施形態のアミノ酸（ＡＡ）配列（前記抗体のV_H及びV_Lドメイン、及びＣＤＲを含む）を表１に列挙する。前記抗体の２つの特定の実施形態は、３Ｂ３．１１及び３１．１と同定される。

【表１】

表１：本発明のマウス抗体のＣＤＲ

抗体	LV-CDR1	LV-CDR2	LV-CDR3	HV-CDR1	HV-CDR2	HV-CDR3
3B3.11	SASSSISSNYLH（配列番号 8）	RTSNLAS（配列番号 9）	QQGSNIPLT（配列番号 10）	RSWMN（配列番号 11）	RIHPGDGDTNYNGKFKG（配列番号 12）	EGSPYFDY（配列番号 13）
31.1	KASQDINNYIA（配列番号 14）	YTSTLQP（配列番号 15）	LQYDNLLRT（配列番号 16）	DYAMH（配列番号 17）	VITNYYGDASYNQKFKG（配列番号 18）	GGYDGYYVDFDY（配列番号 19）

【０１６４】

３Ｂ３．１１軽鎖のアミノ酸配列を以下に記載する。ＣＤＲ領域に下線を引き、定常領域をイタリック体で示す。

【化６】

ＣＤＲ１　　ＣＤＲ２

1 DIQLTQSPTT VAASPGEKIT ITC<u>SASSSIS SNYLH</u>WYQQK PGFSPKLLIY <u>RTSNLAS</u>GVP

ＣＤＲ３　　ＣＬ１

61 ARFSGSGSGT SYSLTIGTME AEDVATYYC<u>Q QGSNIPLT</u>FG AGTKLELKRA *DAAPTVSIFP*

ＣＬ１

121 *PSSEQLTSGG ASVVCFLNNF YPKDINVKWK IDGSERQNGV LNSWTDQDSK DSTYSMSSTL*

ＣＬ１

181 *TLTKDEYERH NSYTCEATHK TSTSPIVKSF NKNE*（配列番号２０）

【０１６５】

３Ｂ３．１１重鎖のアミノ酸配列を以下に記載する。ＣＤＲ領域に下線を引き、定常領域をイタリック体で示す。

【化７】

```
                                    ＣＤＲ１              ＣＤＲ２
1       VKLQESGPEL VKPGASVKIS CKASGYAFSR SWMNWVKQRP GQGLEWIGRI HPGDGDTNYN

        ＣＤＲ２                    ＣＤＲ３              ＣＨ１
61      GKFKGKATLT VAKSSSTAYM QLSSLTSVDS AVYFCANEGS PYFDYWGQGT TLTVSSAKTT

                                    ＣＨ１
121     PPSVYPLAPG SAAQTNSMVT LGCLVKGYFP EPVTVTWNSG SLSSGVHTFP AVLQSDLYTL

        ＣＨ１
181     SSSVTVPSST WPSETVTCNV AHPASSTKVD KKLE（配列番号２１）
```

【０１６６】

３１．１軽鎖のアミノ酸配列を以下に記載する。ＣＤＲ領域に下線を引き、定常領域をイタリック体で示す。

【化８】

```
                                    ＣＤＲ１              ＣＤＲ２
1       DIQLTQSPSS LSASLGDKVT ITCKASQDIN NYIAWYQHKP GKRSRLLIHY TSTLQPGIPS
                                    ＣＤＲ３              ＣＬ１
61      RFSGSGSGRD YSFSISNLEP EDIATYYCLQ YDNLLRTFGG GTKLEIKRAD AAPTVSIFPP

                                    ＣＬ１
121     SSEQLTSGGA SVVCFLNNFY PKDINVKWKI DGSERQNGVL NSWTDQDSKD STYSMSSTLT

                ＣＬ１
181     LTKDEYERHN SYTCEATHKT STSPIVKSFN KNE（配列番号２２）
```

【０１６７】

３１．１重鎖のアミノ酸配列を以下に記載する。ＣＤＲ領域に下線を引き、定常領域をイタリック体で示す。

【化９】

```
                                    ＣＤＲ１              ＣＤＲ２
1       VXLQQSGAEL VRPGVSVKIS CKGSGYTFTD YAMHWVKQSH AKSLEWIGVI TNYYGDASYN

        ＣＤＲ２                                ＣＤＲ３
61      QKFKGKATMT VDKSSSTAYM ELARLTSEDS AIYYCARGGY DGYYVDFDYW GQGTTLTVSS

                                    ＣＬ１
121     AKTTPPSVYP LAPGSAAQTN SMVTLGCLVK GYFPEPVTVT WNSGSLSSGV HTFPAVLQSD

                ＣＬ１
181     LYTLSSSVTV PSSTWPSETV TCNVAHPASS TKVDKKLE（配列番号２３）
```

【０１６８】

特定の実施形態は、３Ｂ３．１１及び３１．１のＦｖ断片のＶＨドメイン、ＶＬドメイン、又はこれらの組み合わせを含む。更なる実施形態は、ＶＨ及びＶＬドメイン由来の１、２、３、４、５、又は６つの相補性決定領域（ＣＤＲ）を含む。ＣＤＲ配列が配列番号２０、２１、２２、又は２３内に含まれる抗体は、本発明の範囲内に包含される。

【０１６９】
本開示は、配列番号２０、２１、２２、又は２３から得られる改変ＶＨ及び／又はＶＬ配列（１又は複数）を用いて抗体を作製することを含む、抗ＦｃＲｎ抗体を得る方法を提供する。当業者は、当該技術分野で既知である技術を用いてかかる抗体を得ることができる。例えば、アミノ酸置換、欠失、又は付加をＦＲ及び／又はＣＤＲ領域に導入することができる。ＦＲの変化は通常、抗体の安定性及び免疫原性を改善するよう設計されるが、ＣＤＲの変化は典型的には抗原に対する抗体の親和性を高めるよう設計される。親和性を高める変化は、ＣＤＲ配列を改変し、標的に対する抗体の親和性を測定することにより試験することができる（Ａｎｔｉｂｏｄｙ Ｅｎｇｉｎｅｅｒｉｎｇ，２ｎｄ ｅｄ．，Ｏｘｆｏｒｄ Ｕｎｉｖｅｒｓｉｔｙ Ｐｒｅｓｓ，ｅｄ．Ｂｏｒｒｅｂａｅｃｋ（１９９５））。
【０１７０】
ＣＤＲ配列が、配列番号２０、２１、２２、又は２３中に含まれる配列と僅かに異なる抗体は、本発明の範囲内に包含される。典型的には、これは、あるアミノ酸を、類似の電荷、疎水性、又は立体化学的性質を有するアミノ酸で置換することを含む。またＣＤＲ領域とは対照的に、抗体の結合特性に有害な影響を及ぼさない限り（例えば非置換抗体に比べて５０％以上親和性を低下させる）、ＦＲ領域においてはより大幅な置換を行ってもよい。生殖系に置換を行ってもよく、又は抗原結合部位を安定化させてもよい。
【０１７１】
マウスモノクローナル抗体の作製方法
モノクローナル抗体の作製方法は記載されている（Ｈａｒｌｏｗ ｅｔ ａｌ．，Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ，Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ，Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ，ＮＹ（１９８８））。場合によっては、第１段階として、げっ歯類、例えばマウスを抗原性ポリペプチドで免疫して、抗体応答を生じさせる。ＦｃＲｎは遍在的に発現し、種間で高い相同性を示すため、ポリペプチドの免疫は、高親和性ＦｃＲｎ特異的モノクローナル抗体又はＦｃＲｎモノクローナルブロッキング抗体の産生は成功していなかった。この問題を解決するために、ＤＮＡワクチン接種を実施することができる（Ｃａｓｔａｇｌｉｏｌａ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ １６０：１４５８（１９９８））。ＤＮＡワクチン接種は、げっ歯類、例えばマウスを、ＦｃＲｎ又はその断片をコードするｃＤＮＡコンストラクトで免疫することを含む。免疫は、筋肉内、腹腔内、皮下、静脈内、皮内、又はリンパ節に直接投与してもよい。１つの実施形態では、免疫化は筋肉内に投与される。ＤＮＡワクチン接種は、アジュバント、例えばフロイント完全アジュバント、又はフロイント不完全アジュバントと共に投与してもよい。ＤＮＡワクチン接種は、心臓毒の投与により抗体力価を高めることにより達成され得る。心臓毒の投与は細胞死、及び投与されたＤＮＡワクチンの細胞内取り込みを増加させる細胞の再生を惹起する。心臓毒はまた、よりロバストな免疫応答を生じさせる炎症を増加させる場合もある。
【０１７２】
抗体分泌細胞（Ｂ細胞）はげっ歯類から単離される。典型的にはＢ細胞は、げっ歯類の脾臓から単離することができ、骨髄腫細胞株と融合され得る。骨髄腫細胞株は、抗体を産生しない不死化細胞株である。骨髄腫細胞株は、Ｐ３－Ｘ６３Ａｇ８、Ｘ６３Ａｇ８．６５３、Ｓｐ２／０－Ａｇ１４、ＦＯ、ＮＳＩ／１－Ａｇ４－１、ＮＳＯ／１、ＦＯＸ－ＮＹ、Ｙ３－Ａｇ１．２．３，ＹＢ２／０及びＩＲ９８３Ｆから選択してもよいが、これらに限定されない。
【０１７３】
脾細胞は、骨髄腫細胞株と融合してハイブリドーマを形成する。融合は、２種の細胞種を適切な時間（例えば５分間）ポリエチレングリコールと混合することにより仲介され得る。形成されたハイブリドーマは、適切な選択培地（例えばＨＡＴ）を用いて細胞培養液中で増殖し、ＦｃＲｎに対するモノクローナル抗体を産生する能力についてスクリーニングされる。スクリーニングは、既知の免疫学的技術、例えばＥＬＩＳＡを用いて実施する

ことができる。

【０１７４】

ＦｃＲｎ特異的モノクローナル抗体を作製する別のアプローチは、トランスジェニックＦｃＲｎノックアウトマウスを可溶性ヒトＦｃＲｎで免疫することである。国際公開第０２／４３６５８号を参照のこと。国際公開第０２／４３６５８号は、ゲノムが内因性ＦｃＲｎ遺伝子中にホモ欠損を含み、前記ホモ欠損が機能的ＦｃＲｎタンパク質の発現を阻止するトランスジェニックマウスについて記載している。本発明のモノクローナル抗体は、ゲノムが内因性ＦｃＲｎ遺伝子中にホモ欠損を含み、前記ホモ欠損が機能的ＦｃＲｎタンパク質の発現を阻止するトランスジェニックマウスでは作製されない。本発明のモノクローナル抗体は、ゲノムが内因性ＦｃＲｎ遺伝子中にホモ欠損を含み、前記ホモ欠損が機能的ＦｃＲｎタンパク質の発現を阻止するトランスジェニックマウス由来のＢ細胞からは構成されない。

【０１７５】

ヒト化抗ＦｃＲｎ抗体ディスプレイライブラリ

ディスプレイライブラリを用いて、ＦｃＲｎに結合する抗体を同定することができる。ディスプレイライブラリは、実体の集合であり、各実体は利用可能なポリペプチド構成要素、及び前記ポリペプチド構成要素をコードする又は同定する回収可能な構成要素を含む。ポリペプチド構成要素は多様であるため、異なるアミノ酸配列が提示される。ポリペプチド構成要素は、任意の長さ、例えば３アミノ酸～３００アミノ酸超であってもよい。選択では、ライブラリの各メンバーのポリペプチド構成要素は、ＦｃＲｎでプロービングされ、ポリペプチド構成要素がＦｃＲｎに結合する場合、ディスプレイライブラリのメンバーは、典型的には支持体上に保持されることにより同定される。更に、ディスプレイライブラリの実体は、１より多いポリペプチド構成要素、例えばｓＦａｂの２本のポリペプチド鎖を含み得る。

【０１７６】

保持されたディスプレイライブラリのメンバーは、支持体から回収され、分析される。分析は、増幅、及びその後行われる類似条件又は異なる条件下における選択を含み得る。例えば、例えば、正の選択及び負の選択を交互に行ってもよい。分析はまた、ポリペプチド構成要素のアミノ酸配列を決定し、更に詳細に特徴付けするためにポリペプチド構成要素を精製することを含み得る。

【０１７７】

ディスプレイライブラリには種々のフォーマットを用いることができる。例としては、以下のものが挙げられる。

【０１７８】

ファージディスプレイ　１つのフォーマットはウイルス、特にバクテリオファージを利用する。このフォーマットは「ファージディスプレイ」と呼ばれている。通常、タンパク質成分はバクテリオファージのコートタンパク質に共有結合で連結される。この連結は、コートタンパク質に融合されたタンパク質成分をコードする核酸の翻訳から生じる。この連結部は柔軟性のペプチドリンカー、プロテアーゼ部位、又は終止コドンの抑制の結果として組み込まれるアミノ酸を含んでいてもよい。ファージディスプレイは、例えば、以下の文献に記載されている：米国特許第５，２２３，４０９号；Ｓｍｉｔｈ（１９８５）Ｓｃｉｅｎｃｅ　２２８：１３１５－１３１７；国際公開第９２／１８６１９号；国際公開第９１／１７２７１号；国際公開第９２／２０７９１号；国際公開第９２／１５６７９号；国際公開第９３／０１２８８号；国際公開第９２／０１０４７号；国際公開第９２／０９６９０号；国際公開第９０／０２８０９号；ｄｅ　Ｈａａｒｄ　ｅｔ　ａｌ．（１９９９）Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ　２７４：１８２１８－３０；Ｈｏｏｇｅｎｂｏｏｍ　ｅｔ　ａｌ．（１９９８）Ｉｍｍｕｎｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ　４：１－２０；Ｈｏｏｇｅｎｂｏｏｍ　ｅｔ　ａｌ．（２０００）Ｉｍｍｕｎｏｌ　Ｔｏｄａｙ　２：３７１－８；Ｆｕｃｈｓ　ｅｔ　ａｌ．（１９９１）Ｂｉｏ／Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ　９：１３７０－１３７２；Ｈａｙ　ｅｔ　ａｌ．（１９９２）Ｈｕｍ　Ａｎｔｉｂｏｄ　Ｈｙｂｒｉｄｏｍ

ａｓ ３：８１－８５；Ｈｕｓｅ ｅｔ ａｌ．（１９８９）Ｓｃｉｅｎｃｅ ２４６：１２７５－１２８１；Ｇｒｉｆｆｉｔｈｓ ｅｔ ａｌ．（１９９３）ＥＭＢＯ Ｊ １２：７２５－７３４；Ｈａｗｋｉｎｓ ｅｔ ａｌ．（１９９２）Ｊ Ｍｏｌ Ｂｉｏｌ ２２６：８８９－８９６；Ｃｌａｃｋｓｏｎ ｅｔ ａｌ．（１９９１）Ｎａｔｕｒｅ ３５２：６２４－６２８；Ｇｒａｍ ｅｔ ａｌ．（１９９２）ＰＮＡＳ ８９：３５７６－３５８０；Ｇａｒｒａｒｄ ｅｔ ａｌ．（１９９１）Ｂｉｏ／Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ ９：１３７３－１３７７；及びＨｏｏｇｅｎｂｏｏｍ ｅｔ ａｌ．（１９９１）Ｎｕｃ Ａｃｉｄ Ｒｅｓ １９：４１３３－４１３７。

【０１７９】

ファージディスプレイ系は繊維状ファージ（ファージｆ１、ｆｄ、及びＭ１３）や他のバクテリオファージについて開発されている。繊維状ファージディスプレイ系は典型的には、例えば遺伝子ＩＩＩタンパク質等のマイナーなコートタンパク質、及び遺伝子ＶＩＩＩタンパク質等のメジャーなコートタンパク質への融合を利用するが、遺伝子ＶＩタンパク質、遺伝子ＶＩＩタンパク質、遺伝子ＩＸタンパク質、又はこれらのドメイン等の他のコートタンパク質への融合を用いることもできる（例えば国際公開第００／７１６９４号参照）。１つの実施形態では、融合は、遺伝子ＩＩＩタンパク質のドメイン、例えばアンカードメイン又は「スタンプ（ｓｔｕｍｐ）」に対して行われる（例えば、遺伝子ＩＩＩタンパク質のアンカードメインについては米国特許第５，６５８，７２７号を参照）。提示されるタンパク質を、非ペプチド結合を介して、コートタンパク質に物理的に会合させることも可能である。

【０１８０】

タンパク質成分を提示しているバクテリオファージは、増殖させてから、標準的なファージ調製方法（例えば、増殖培地からのＰＥＧ沈降）を用いて回収することができる。個々のディスプレイファージの選択後、選択されたタンパク質成分をコードする核酸を、増幅後に、選択したファージを感染させた細胞から、又はファージそれ自体から単離することができる。個々のコロニー又はプラークを拾い上げ、核酸を単離して配列決定する。

【０１８１】

他のディスプレイフォーマット　その他のディスプレイフォーマットには次のものが含まれる：細胞に基づくディスプレイ（例えば、国際公開第０３／０２９４５６参照）、タンパク質－核酸融合体（例えば、米国特許第６，２０７，４４６参照）、及びリボソームディスプレイ（例えば、Ｍａｔｔｈｅａｋｉｓ ｅｔ ａｌ．（１９９４）Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ９１：９０２２及びＨａｎｅｓ ｅｔ ａｌ．（２０００）Ｎａｔ Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ．１８：１２８７－９２；Ｈａｎｅｓ ｅｔ ａｌ．（２０００）Ｍｅｔｈｏｄｓ Ｅｎｚｙｍｏｌ．３２８：４０４－３０；及びＳｃｈａｆｆｉｔｚｅｌ ｅｔ ａｌ．（１９９９）Ｊ Ｉｍｍｕｎｏｌ Ｍｅｔｈｏｄｓ．２３１（１－２）：１１９－３５参照）。

【０１８２】

スカフォールド　ディスプレイのスカフォールドには、抗体（例えば、Ｆａｂ断片、一本鎖Ｆｖ分子（ｓｃＦｖ）、単一領域抗体、ラクダ抗体、及びラクダ化抗体）、Ｔ－細胞受容体、ＭＨＣタンパク質、細胞外領域（例えばフィブロネクチンＩＩＩ型反復、ＥＧＦ繰り返し）、プロテアーゼ阻害剤（例えばＫｕｎｉｔｚ領域、エコチン、ＢＰＴＩ、その他）、ＴＰＲ反復、トリホイル構造、亜鉛フィンガー領域、ＤＮＡ結合タンパク質、特定一量体ＤＮＡ結合タンパク質、ＲＮＡ結合タンパク質、酵素、例えばプロテアーゼ（特に不活性化プロテアーゼ）、ＲＮａｓｅ、チャペロン、例えばチオレドキシン、及び熱ショックタンパク質、及び細胞内シグナル領域（ＳＨ２及びＳＨ３領域等）、線状及び拘束ペプチド、及び線状ペプチド基質が含まれ得る。ディスプレイライブラリは、合成及び／又は天然の多様性を含んでもよい。例えば米国特許出願公開第２００４－０００５７０９号参照。

【０１８３】

ディスプレイ技術はまた、特に標的のエピトープに結合する抗体を得るために使用可能

である。これは、例えば、特定のエピトープを欠くか、エピトープ内で、例えばアラニンで変異された、非標的分子と競合することを用いて実施可能である。そのような非標的分子を、以下で記述するように負の選択手順にて使用可能である。これは標的へディスプレイライブラリが結合したときの競合分子として、又は例えば標的に特異的でないディスプレイライブラリメンバーを解離させる洗浄溶液中に捕捉するための前溶出剤として用いられる。

【０１８４】

反復選択　１つの実施形態において、ディスプレイライブラリ技術は、反復モードで使用される。第１ディスプレイライブラリを、標的に結合する１つ以上の抗体を同定するために使用する。これらの同定された抗体を、次いで、突然変異誘発法を用いて変化させて、第２ディスプレイライブラリを形成する。次いでより高い親和性抗体を、第２ライブラリから、例えば、より高いストリンジェンシー、又はより競合的結合及び洗浄条件を用いることによって選択する。

【０１８５】

幾つかの実現形態において、突然変異誘発は、結合表面に存在することが知られているか、あり得る領域を標的とする。抗体の場合、突然変異誘発を、本明細書で記述したような、重鎖又は軽鎖のＣＤＲ領域に向けることが可能である。更に、突然変異誘発を、ＣＤＲの近く又は隣接するフレームワーク領域に向けることが可能である。抗体の場合、突然変異誘発はまた、例えば、正確な段階的改善をするために、１つ又は数個のＣＤＲに限定することも可能である。代表的な突然変異誘発技術としては、ＰＣＲ、組換え、ＤＮＡシャフリング、部位特異的突然変異誘発、及びカセット突然変異誘発が挙げられる。

【０１８６】

反復選択の１つの例において、本明細書で記述した方法は、第１に、少なくとも標的に対して最小の結合特異性又は最小活性、例えば、１ｎＭ、１０ｎＭ又は１００ｎＭ未満の、結合に関する平衡解離定数をもって、ＦｃＲｎに結合するディスプレイライブラリから抗体を同定するために使用される。最初に同定された抗体をコードする核酸配列を、変異の導入に関する鋳型核酸として使用し、例えば、最初の抗体と比べて特性の強化されている（例えば結合親和性、速度論又は安定性）第２の抗体を同定するため使用される。

【０１８７】

ｏｆｆ－ｒａｔｅ選択　解離速度が遅いと、特に抗体とその標的との相互作用に関して、親和性が高いと予測できるため、本明細書に記載の方法を用いて、標的との結合相互作用について所望の（例えば、低下した）解離速度を有する抗体を単離することができる。

【０１８８】

ディスプレイライブラリから解離速度が遅いする抗体を選択するために、そのライブラリを固定化した標的と接触させる。次に、固定化標的を、非特異的に又は弱く結合した生体分子を除去する第１溶液で洗浄する。その後、結合抗体を、飽和量の遊離標的又は標的特異的高親和性競合性モノクローナル抗体、即ち粒子に付着していない標的の複製を含む第２溶液により溶出する。遊離標的が標的から解離した生体分子と結合する。再結合は、かなり低濃度の固定化標的に対して飽和量の遊離標的によって効果的に防止される。

【０１８９】

第２溶液は、実質的に生理的な又はストリンジェントな溶液条件を有することができる。一般的には、第２溶液の溶液条件は第１溶液の溶液条件と同一である。第２溶液の画分を時間順に回収して、早い画分と遅い画分とを区別する。より遅い画分は、早い画分中の生体分子よりも遅い速度で標的から解離する生体分子を含んでいる。

【０１９０】

更に、インキュベーション時間を延長した後も標的と結合した状態を保っているディスプレイライブラリのメンバーを回収することも可能である。これらはカオトロピック条件を用いて解離させることができ、あるいは、標的に結合させたままで増幅することもできる。例えば、標的と結合したファージを細菌細胞に接触させることができる。

【０１９１】

特異性の選択又はスクリーニング　本明細書に記載するディスプレイライブラリスクリーニング法には、非標的分子と結合するディスプレイライブラリのメンバーを廃棄する選択又はスクリーニングプロセスを含み得る。非標的分子の例としては、磁気ビーズ上のストレプトアビジン、ウシ血清アルブミン、脱脂ウシ乳、任意の捕捉若しくは標的固定化モノクローナル抗体等のブロッキング剤、又はヒトＦｃＲｎ標的を発現しない非トランスフェクト細胞が挙げられる。

【０１９２】

１つの実施形態においては、いわゆる「負の選択」工程を用いて、標的と、関連した非標的分子と、関連するが明らかに異なる非標的分子とを区別する。ディスプレイライブラリ又はそのプールを非標的分子と接触させる。非標的に結合しない試料のメンバーを回収して、標的分子との結合についての後続の選択に用いるか、又は後続の負の選択にさえも使用する。負の選択工程は、標的分子と結合するライブラリのメンバーを選択する前であっても後であってもよい。

【０１９３】

別の実施形態では、スクリーニング工程を用いる。標的分子との結合についてディスプレイライブラリのメンバーを選択して単離した後、それぞれの単離したライブラリメンバーを、非標的分子（例えば、先に挙げた非標的）と結合するその能力について試験する。例えば、このデータを得るには、ハイスループットＥＬＩＳＡスクリーニングを利用し得る。またＥＬＩＳＡスクリーニングを用いて、各ライブラリメンバーの標的への結合、並びに関連標的又は標的のサブユニット（例えばラットＦｃＲｎ、β２マイクログロブリン）に対する種間反応性、またｐＨ６又ｐＨ７．５等の異なる条件下における定量データを得ることができる。非標的及び標的と結合するデータを比較して（例えば、コンピュータとソフトウェアを使用）、標的と特異的に結合するライブラリメンバーを同定する。

【０１９４】

他の発現ライブラリ

他の種類のタンパク質のコレクション（例えば発現ライブラリ）を用いて、特定の特性（例えばＦｃＲｎに結合する能力及び／又はＦｃＲｎを調節する能力）を有するタンパク質を同定することができる。かかるコレクションには、例えば抗体のタンパク質アレイ（例えばＤｅ　Ｗｉｌｄｔ　ｅｔ　ａｌ．（２０００）Ｎａｔ．Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ．１８：９８９－９９４参照）、ラムダｇｔ１１ライブラリ、ツーハイブリッドライブラリ等が挙げられる。

【０１９５】

抗体ライブラリ

１つの実施形態において、ライブラリは、それぞれが、免疫グロブリン領域、例えば免疫グロブリン可変領域を含む、ポリペプチドの多様なプールを提示する。ディスプレイライブラリはとりわけ、例えば、ヒト抗原を認識するヒト又は「ヒト化」抗体を同定するために有用である。そのような抗体は、自己免疫障害のようなヒト障害を治療するために、治療として使用可能である。抗体の定常及びフレームワーク領域がヒトであるので、これらの治療用抗体は、自身を抗原として、認識及び標的化されることが避けられ得る。定常領域をまた、ヒト免疫系のエフェクター機能を動員させるために最適化し得る。インビトロディスプレイ選択プロセスは、自己抗原に対して抗体を産生する正常なヒト免疫系の不全性を克服する。

【０１９６】

典型的な抗体ディスプレイライブラリは、ＶＨ領域とＶＬ領域を含むポリペプチドを提示する。「免疫グロブリンドメイン」は、免疫グロブリン分子の可変又は定常領域からの領域を意味する。免疫グロブリンドメインは、典型的には、約７つのβ鎖から成る２つのβ－シート及び保存ジスルフィド結合を含む（例えば、Ａ．Ｆ．Ｗｉｌｌｉａｍｓ　ａｎｄ　Ａ．Ｎ．Ｂａｒｃｌａｙ，１９８８，Ａｎｎ．Ｒｅｖ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．６：３８１－４０５を参照のこと）。ディスプレイライブラリは、Ｆａｂ断片（例えば２つのポリペプチド鎖を使用して）、又は一本鎖Ｆｖ（例えば単一ポリペプチド鎖を使用して）として

抗体を提示可能である。他のフォーマットもまた使用可能である。

【０１９７】

Ｆａｂ及び他のフォーマットの場合のように、提示された抗体は、軽鎖及び／又は重鎖の一部として、１つ以上の定常領域を含み得る。１つの実施形態において、各鎖には、例えばＦａｂの場合のように、１つの定常領域が含まれる。他の実施形態においては、さらなる定常領域が提示される。

【０１９８】

抗体ライブラリは、多くのプロセスによって構築可能である（例えば、ｄｅ Ｈａａｒｄ ｅｔ ａｌ．，１９９９，Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．２７４：１８２１８－３０；Ｈｏｏｇｅｎｂｏｏｍ ｅｔ ａｌ．，１９９８，Ｉｍｍｕｎｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ ４：１－２０；ａｎｄ Ｈｏｏｇｅｎｂｏｏｍ ｅｔ ａｌ．，２０００，Ｉｍｍｕｎｏｌ．Ｔｏｄａｙ ２１：３７１－３７８を参照のこと）。更に、各プロセスの要素を、他のプロセスの要素と組み合わせることが可能である。このプロセスは、変異を単一免疫グロブリンドメイン（例えば、ＶＨ又はＶＬ）内、又は複数の免疫グロブリンドメイン内（例えばＶＨ及びＶＬ）に導入するために使用可能である。変異を、免疫グロブリン可変ドメイン、例えば、１つ又はそれ以上の、重鎖及び軽鎖可変ドメインのいずれか、及び両方のそのような領域を指す、ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、ＣＤＲ３、ＦＲ１、ＦＲ２、ＦＲ３及びＦＲ４の領域内に導入可能である。１つの実施形態において、変異を、所与の可変ドメインの３つ全てのＣＤＲ中に導入する。他の実施形態において、変異を、例えば重鎖可変ドメインの、ＣＤＲ１及びＣＤＲ２に導入する。任意の組み合わせが、実現可能である。１つのプロセスでは、抗体ライブラリを、核酸の相当する領域に、ＣＤＲをコードする多様なオリゴヌクレオチドを挿入することによって構築する。オリゴヌクレオチドは、単量ヌクレオチド又はトリヌクレオチドを用いて合成可能である。例えば、Ｋｎａｐｐｉｋ ｅｔ ａｌ．，２０００，Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．２９６：５７－８６）は、トリヌクレオチド合成と、オリゴヌクレオチドを受容するための改変制限部位を持つテンプレートを用いて、オリゴヌクレオチドをコードするＣＤＲを構築するための方法を記述している。

【０１９９】

他のプロセスにおいて、動物、例えばげっ歯類を、ＦｃＲｎで免疫する。その動物を任意に、抗原で追加免疫して、更に応答を刺激する。次いで脾細胞を動物から単離し、ＶＨ及び／又はＶＬドメインをコードする核酸を増幅し、ディスプレイライブラリ中で発現させるためにクローニングする。

【０２００】

更に別の工程において、抗体ライブラリは、ナイーブな生殖細胞系列免疫グロブリン遺伝子から増幅した核酸から構築される。増幅した核酸には、ＶＨ及び／又はＶＬ領域をコードする核酸が含まれる。免疫グロブリンをコードする核酸の供給源は、以下で記述されている。増幅には、例えば、保存定常領域にアニールするプライマーを用いる、ＰＣＲ又は別の増幅方法が含まれる。

【０２０１】

免疫グロブリン領域をコードする核酸は、例えばヒト、霊長類、マウス、ウサギ、ラクダ、ラマ、又はげっ歯類の免疫細胞より得ることができる。１つの例において、細胞を、特定の特性について選択する。種々の成熟段階のＢ細胞を選択可能である。他の例において、Ｂ細胞はナイーブである。

【０２０２】

１つの実施形態において、蛍光活性化細胞選別（ＦＡＣＳ）を使用して、表面結合ＩｇＭ、ＩｇＤ又はＩｇＧ分子を発現しているＢ細胞を選別する。更に、ＩｇＧの異なるアイソタイプを発現しているＢ細胞を単離可能である。別の実施形態において、Ｂ又はＴ細胞を、インビトロにて培養する。細胞を、インビトロにて、フィーダー細胞とともに培養することによって、又はマイトジェン又は他の調節試薬、例えばＣＤ４０に対する抗体、ＣＤ４０リガンド又はＣＤ２０、酢酸ミリスチン酸ホルボール、細菌リポ多糖類、コンカナバリンＡ、フィトヘムグルチニン又はアメリカヤマゴボウマイトジェン等を添加すること

によって刺激することが可能である。

【０２０３】

更なる１つの実施形態において、細胞を、自己免疫障害、例えば、全身性エリテマトーデス（ＳＬＥ）、リウマチ様関節炎、脈管炎、シェーグレン症候群、全身性硬化症、又は抗リン脂質症候群等に罹患している対象から単離する。対象は、ヒト又は動物、例えば、ヒト疾患の動物モデル、又は類似の疾患を持つ動物であり得る。また他の実施形態において、細胞は、ヒト免疫グロブリン座を含む、トランスジェニック非ヒト動物から単離される。

【０２０４】

１つの実施形態において、細胞は体細胞超変異のプログラムを活性化した。細胞を、例えば、抗免疫グロブリン、抗ＣＤ４０、及び抗ＣＤ３８抗体で処理することによって、免疫グロブリン遺伝子の体細胞変異が行われるように刺激可能である（例えばＢｅｒｇｔｈｏｒｓｄｏｔｔｉｒ ｅｔ ａｌ．，２００１，Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１６６：２２２８）を参照のこと。１つの実施形態において、細胞はナイーブである。

【０２０５】

免疫グロブリン可変領域をコードする核酸は、以下の例示的な方法によって、天然のレパートリーから単離可能である。第１に、ＲＮＡを免疫細胞より単離する。全長（即ちキャップ）ｍＲＮＡを分離する（例えば、子牛腸ホスファターゼと、非キャップＲＮＡを分解することによって）。次いでキャップを、タバコ酸ピロホスファターゼによって除去し、逆転写を使用して、ｃＤＮＡを生成する。

【０２０６】

第１（アンチセンス）鎖の逆転写を、任意の好適なプライマーで、任意の様式にて実施可能である。例えば、ｄｅ Ｈａａｒｄ ｅｔ ａｌ．，１９９９，Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．２７４：１８２１８－３０を参照のこと。プライマー結合領域は、例えば、免疫グロブリンの異なるアイソタイプを逆転写するために、異なる免疫グロブリン間で一定であり得る。プライマー結合領域はまた、免疫グロブリンの特定のアイソタイプに特異的であり得る。典型的に、プライマーは、少なくとも１つのＣＤＲをコードする配列に対して３’側である領域に関して特異的である。１つの実施形態において、ポリｄＴプライマーを使用してよい（そして、これは重鎖遺伝子に対して好ましい可能性がある）。

【０２０７】

合成配列を、逆転写した鎖の３’末端にライゲーション可能である。合成配列は、逆転写の後、ＰＣＲ増幅の中に、フォワードプライマーの結合のために、プライマー結合部位として使用可能である。合成配列の使用により、利用可能な多様性を完全に得るために異なるフォワードプライマーのプールを使用することの必要性を除くことができる。

【０２０８】

次いで、可変領域をコードする遺伝子を、例えば１つ又はそれ以上のラウンドを用いて増幅する。複数ラウンドを用いる場合、忠実度をあげるために、ネステッドプライマーを使用可能である。次いで増幅した核酸を、ディスプレイライブラリベクター内にクローニングする。

【０２０９】

二次スクリーニング法

標的に結合する候補ライブラリメンバーを選択した後に、例えば、標的に対するその結合特性を更に特徴付けするために、それぞれの候補ライブラリメンバーを更に分析することができる。各候補ライブラリメンバーを、１つ又はそれ以上の二次スクリーニングアッセイに供することができる。アッセイは、結合特性、触媒特性、阻害特性、生理学的特性（例えば、細胞毒性、腎臓クリアランス、免疫原性）、構造的特性（例えば、安定性、立体配座、オリゴマー化状態）又は他の機能的特性に関するアッセイであり得る。同様のアッセイを、繰り返し、ただし、条件を変化させて例えばｐＨ、イオン又は温度感受性を決定するために使用可能である。

【０２１０】

必要に応じて、アッセイは、ディスプレイライブラリメンバーを直接、選択されたポリペプチドをコードする核酸から生成した組換え体ポリペプチドを、又は選択されたポリペプチドの配列に基づいて合成した合成ペプチドを使用可能である。結合特性に関する例示的なアッセイには、以下が含まれる。

【０２１１】

ＥＬＩＳＡ　発現ライブラリから選択されたタンパク質は、ＥＬＩＳＡアッセイを用いて結合特性について評価することもできる。例えば各抗体を、プレートの底面を標的（例えば、限定量の標的）でコーティングしたマイクロタイタープレートに接触させる。そのプレートをバッファーで洗浄し、非特異的に結合したポリペプチドを除去する。その後、プレートに結合した抗体の量を、試験抗体（例えば、該抗体のタグ又は定常部分）を認識し得る抗体でプレートをプロービングすることにより測定する。検出抗体は、アルカリホスファターゼ又はセイヨウワサビペルオキシダーゼ（ＨＲＰ）（適切な基質が与えられると、比色産物を生じる）のような酵素に連結させる。

【０２１２】

ディスプレイライブラリ由来の抗体の場合、該抗体は細胞から精製してもよいし、例えば繊維状バクテリオファージコートとの融合体として、ディスプレイライブラリ方式でアッセイしてもよい。別のバージョンのＥＬＩＳＡでは、発現ライブラリから選択された抗体を用いてマイクロタイタープレートの異なるウェルをコーティングする。次いで、定常標的分子を用いてＥＬＩＳＡを進めて、各ウェルをクエリー（ｑｕｅｒｙ）する。

【０２１３】

均質結合アッセイ　候補抗体の標的との結合相互作用を、均質アッセイ、即ち、アッセイの全ての要素を足した後に、更なる流体操作が必要のないアッセイを使用して解析可能である。例えば、蛍光共鳴エネルギー転送（ＦＲＥＴ）を、均質アッセイとして使用可能である（例えば、Ｌａｋｏｗｉｃｚｅｔら、米国特許第５，６３１，１６９号、Ｓｔａｖｒｉａｎｏｐｏｕｌｏｓら、米国特許第４，８６８，１０３号を参照のこと）。第２分子が、第１分子の近くに存在する場合に、その放射蛍光エネルギーが、第２分子（例えば標的）上の蛍光標識によって吸収可能であるように、第１分子上の蛍光標識（例えば、画分中で同定された分子）を選択する。第２分子上の蛍光標識は、転送されたエネルギーに吸収される時に、蛍光を発する。標識間のエネルギー転送の効率は、分離した分子の距離に関係するので、分子間の空間的関係を評価し得る。分子間で結合が起こる状況において、アッセイ内の「アクセプター」分子標識の蛍光放射は最大であるべきである。ＦＲＥＴによってモニタリングするために設定された結合事象は、本技術分野で周知の、標準的蛍光分析検出方法（例えばフルオリメーターを使用する）を介して、都合よく測定可能である。第１又は第２結合分子の量を滴定することによって、結合曲線を作製し、平衡結合定数を推定可能である。

【０２１４】

均質アッセイの他の例は、ＡＬＰＨＡＳＣＲＥＥＮ（商標）（Ｐａｃｋａｒｄ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅ，Ｍｅｒｉｄｅｎ　ＣＴ）である。ＡＬＰＨＡＳＣＲＥＥＮ（商標）は、２つの標識ビーズを使用する。１つのビーズが、レーザーによって励起された場合に、一重項酸素を生成する。他方のビーズは、一重項酸素が、第１ビーズより発散され、これに衝突した場合に、光シグナルを生成する。シグナルは、２つのビーズが接近している場合にのみ発生する。一方のビーズは、ディスプレイライブラリメンバーに付着することができ、他方は標的に付着することができる。シグナルを測定して、結合の程度を決定する。

【０２１５】

均質アッセイは、候補ポリペプチドが、ディスプレイライブラリビヒクル、例えばバクテリオファージに付着する間に実施可能である。

【０２１６】

表面プラズモン共鳴（ＳＰＲ）　発現ライブラリから単離した分子と標的との結合相互作用は、ＳＰＲを用いて解析することができる。ＳＰＲ又は生体分子相互作用解析（ＢＩＡ）は、相互作用する物質のいずれをも標識することなく、リアルタイムで生体特異的相

互作用を検出する。ＢＩＡチップの結合表面での質量の変化（結合現象を示す）が、その表面に近い光の屈折率の変化（表面プラズモン共鳴（ＳＰＲ）の光学現象）をもたらす。屈折度の変化は検出可能なシグナルをもたらし、かかるシグナルを生体分子間のリアルタイム反応の指標として測定する。ＳＰＲの使用法は、例えば、米国特許第５，６４１，６４０号；Ｒａｅｔｈｅｒ，１９８８，Ｓｕｒｆａｃｅ Ｐｌａｓｍｏｎｓ Ｓｐｒｉｎｇｅｒ Ｖｅｒｌａｇ；Ｓｊｏｌａｎｄｅｒ ａｎｄ Ｕｒｂａｎｉｃｚｋｙ，１９９１，Ａｎａｌ．Ｃｈｅｍ．６３：２３３８－２３４５；Ｓｚａｂｏ ｅｔ ａｌ．，１９９５，Ｃｕｒｒ．Ｏｐｉｎ．Ｓｔｒｕｃｔ．Ｂｉｏｌ．５：６９９－７０５及びＢＩＡｃｏｒｅ Ｉｎｔｅｒｎａｔｉｏｎａｌ ＡＢ（Ｕｐｐｓａｌａ，Ｓｗｅｄｅｎ）により提供されるオンラインリソースに記載されている。

【０２１７】

ＳＰＲからの情報を用いて、平衡解離定数（K_d）、及び生体分子が標的に結合する反応速度論的パラメーター（K_{on}及びK_{off}を含む）の正確な定量的測定が得られる。こうしたデータは様々な生体分子を比較するために用いることができる。例えば、発現ライブラリ由来のタンパク質を比較して、標的に対して高い親和性を有するか、又は遅いK_{off}を有するタンパク質を同定することができる。この情報はまた、構造－活性相関関係（ＳＡＲ）を明らかにするためにも使用することができる。例えば、親タンパク質の成熟バージョンの反応速度論的及び平衡結合パラメータを親タンパク質の当該パラメータと比較し得る。特定の結合パラメータ（例えば、高親和性及び遅いK_{off}）と相関する所与の位置の変異アミノ酸を同定することができる。この情報を構造モデリング（例えば、相同性モデリング、エネルギー最小化、又はX線、結晶学若しくはＮＭＲによる構造決定）と組み合わせることもできる。その結果、タンパク質とその標的との物理的相互作用を明確に理解することができ、これを他の設計プロセスの指針として用いることができる。

【０２１８】

細胞アッセイ　候補抗体のライブラリ（例えばディスプレイライブラリ又はその他により既に同定されている）は、細胞表面上の対象標的を一過的に又は安定に発現し、提示する、細胞上の標的結合についてスクリーニングすることができる。例えば、標的は、キメラ標的ポリペプチドが細胞内で産生され、細胞から分泌され、又は例えばＦｃ等の膜アンカータンパク質と融合しているアンカーを通して細胞表面に接着されるように、ポリペプチドの細胞外ドメインのみをコードするセグメントを含むベクター核酸配列を含んでもよい。細胞表面で発現する標的は、ＦｃＲｎに結合し、ＩｇＧ－Ｆｃの結合をブロックする抗体をスクリーニングするために用いることができる。例えば、非特異的ヒトＩｇＧ－Ｆｃは蛍光標識されていてもよく、拮抗性抗体の存在又は非存在下におけるＦｃＲｎに対する結合を、フローサイトメトリー、例えばＦＡＣＳ機器を用いて蛍光強度の変化により検出することができる。

【０２１９】

ＦｃＲｎ結合抗体を得るための他の方法

ディスプレイライブラリの使用に加えて、ＦｃＲｎ結合抗体を得るために他の方法を使用し得る。例えば、ＦｃＲｎタンパク質又はその領域を、非ヒト動物、例えばげっ歯類における抗原として使用し得る。

【０２２０】

１つの実施形態において、非ヒト動物は、ヒト免疫グロブリン遺伝子の少なくとも一部を含む。例えば、ヒトＩｇ遺伝子座の大型断片を用いてマウス抗体を産生できないマウス系統を作り出すことができる。ハイブリドーマ技術を使用して、所望の特異性を有する遺伝子由来の抗原特異的モノクローナル抗体（Ｍａｂ）を生成かつ選択し得る。例えば、ＸｅｎｏＭｏｕｓｅ（商標）、Ｇｒｅｅｎ ｅｔ ａｌ．，１９９４，Ｎａｔｕｒｅ Ｇｅｎｅｔｉｃｓ ７：１３－２１，米国特許出願公開第２００３００７０１８５号、国際公開第９６／３４０９６号（１９９６年１０月３１日公開）及び国際出願第ＰＣＴ／ＵＳ９６／０５９２８号（１９９６日４月２９日出願）を参照されたい。

【０２２１】

１つの実施形態において、モノクローナル抗体を、非ヒト動物から得、次いで改変、例えばヒト化又は脱免疫化する。Ｗｉｎｔｅｒは、ヒト化抗体を調製するために使用し得るＣＤＲグラフト化法を記載している（英国特許出願ＧＢ２１８８６３８Ａ（１９８７年３月２６日出願）；米国特許第５，２２５，５３９号）。特定のヒト抗体の全てのＣＤＲが、非ヒトＣＤＲの少なくとも一部で置換されるか、又はＣＤＲの一部のみが、非ヒトＣＤＲで置換され得る。ヒト化抗体を所定の抗原に結合させるために必要とされる、ＣＤＲの数を取り替えさえすればよい。

【０２２２】

ヒト化抗体を、抗原結合に直接関与しないＦｖ可変領域の配列を、ヒトＦｖ可変ドメイン由来の等価な配列で置換することにより生成し得る。ヒト化抗体を生成する一般的方法は、Ｍｏｒｒｉｓｏｎ，Ｓ．Ｌ．，１９８５，Ｓｃｉｅｎｃｅ ２２９：１２０２－１２０７、Ｏｉ ｅｔ ａｌ．，１９８６，ＢｉｏＴｅｃｈｎｉｑｕｅｓ ４：２１４及びＱｕｅｅｎら、米国特許第５，５８５，０８９号、同第５，６９３，７６１号及び同第５，６９３，７６２号により提供される。これらの方法は、重鎖又は軽鎖の少なくとも一つ由来の免疫グロブリンＦｖ可変領域の全て又は一部をコードする核酸配列を、単離、操作及び発現することを包含する。そのような核酸の供給源は、当業者に周知であり、例えば上記のように所定の標的に対して抗体を産生するハイブリドーマから得られ得る。次いで、ヒト化抗体又はその断片をコードする組換えＤＮＡを、適切な発現ベクターにクローニングし得る。

【０２２３】

ＦｃＲｎ結合抗体はまた、国際公開第９８／５２９７６号及び国際公開第００／３４３１７号（これらの内容は、本明細書中に参考として具体的に援用される）に開示の方法によりヒトＴ細胞エピトープの特異的な欠失又は「脱免疫化」により改変され得る。簡単に説明すると、抗体の重鎖及び軽鎖可変領域を、ＭＨＣクラスＩＩに結合するペプチドに関して分析し得る；これらのペプチドは（国際公開第９８／５２９７６号及び国際公開第００／３４３１７号に定義されるような）可能性のあるＴ細胞エピトープに相当する。可能性のあるＴ細胞エピトープの検出のために、「ペプチドスレディング（ｐｅｐｔｉｄｅ ｔｈｒｅａｄｉｎｇ）」と呼ばれるコンピュータモデリングアプローチを適用することができ、更にヒトＭＨＣクラスＩＩ結合ペプチドのデータベースを、国際公開第９８／５２９７６号及び国際公開第００／３４３１７号に記載されるようにＶＨ及びＶＬ配列に存在するモチーフについて検索することができる。これらのモチーフは、任意の１８種類の主要なＭＨＣクラスＩＩ ＤＲアロタイプに結合し、したがって、可能性のあるＴ細胞エピトープを構成する。検出された可能性のあるＴ細胞エピトープは、可変領域中の少数のアミノ酸残基を置換すること、又は単一アミノ酸置換によって除去し得る。可能な保存的置換が行なわれる限り、ヒト生殖細胞系抗体配列中のこの位置に共通するアミノ酸を、しばしば、しかし排他的ではなく、使用し得る。ヒト生殖細胞系配列は、Ｔｏｍｌｉｎｓｏｎ，Ｉ．Ａ．ｅｔ ａｌ．，１９９２，Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．２２７：７７６－７９８；Ｃｏｏｋ，Ｇ．Ｐ．ｅｔ ａｌ．，１９９５，Ｉｍｍｕｎｏｌ．Ｔｏｄａｙ Ｖｏｌ．１６（５）：２３７－２４２；Ｃｈｏｔｈｉａ，Ｄ．ｅｔ ａｌ．，１９９２，Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏ．２２７：７９９－８１７に開示されている。Ｖ ＢＡＳＥディレクトリは、ヒト免疫グロブリン可変領域配列の包括的なディレクトリを提供する（Ｔｏｍｌｉｎｓｏｎ，Ｉ．Ａ．ｅｔ ａｌ．，ＭＲＣ Ｃｅｎｔｒｅ ｆｏｒ Ｐｒｏｔｅｉｎ Ｅｎｇｉｎｅｅｒｉｎｇ，Ｃａｍｂｒｉｄｇｅ，ＵＫにより編成）。脱免疫変化を同定した後、V_HとV_Lをコードする核酸を、変異誘発又は他の合成方法（例えば、デノボ合成、カセット置換等）により構築し得る。変異誘発した可変配列は、任意的に、ヒト定常領域、例えば、ヒトＩｇＧ１又はκ定常領域に融合させ得る。

【０２２４】

場合によっては、可能性のあるＴ細胞エピトープは、抗体機能に重要であると知られているか、又は予測されている残基を含む。例えば、可能性のあるＴ細胞エピトープは、通常、ＣＤＲに偏向している。更に、可能性のあるＴ細胞エピトープは、抗体の構造及び結

合にとって重要なフレームワーク残基に生じ得る。これらの可能性のあるエピトープを除去する変化は、場合によっては、例えば、変化している鎖及び変化していない鎖を作製し試験することによる更に厳密な精査を必要とする。可能な場合には、ＣＤＲに重複する可能性のあるＴ細胞エピトープをＣＤＲ外での置換により除去した。ある場合では、ＣＤＲ内の変更が唯一の選択肢であり、したがって、この置換がある変異体及びない変異体について試験すべきである。他の場合には、可能性のあるＴ細胞エピトープを除去するために必要とされる置換は、抗体結合に重要であり得るフレームワーク内の残基位置にある。これらの場合、この置換がある変異体及びない変異体を試験すべきである。よって、ある場合では、最適な脱免疫化抗体を同定するために、幾つかの変異体脱免疫化重鎖及び軽鎖可変領域を設計し、多様な重鎖／軽鎖組合せを試験する。次いで、異なる変異体の結合親和性を、脱免疫化の程度、即ち可変領域に残る可能性のあるＴ細胞エピトープの数と共に考慮することにより、最終的な脱免疫化抗体の選択を行い得る。脱免疫化は、任意の抗体、例えば非ヒト配列を含む抗体、例えば、合成抗体、マウス抗体、他の非ヒトモノクローナル抗体、又はディスプレイライブラリから単離された抗体を改変するために使用され得る。

【０２２５】

抗体の生殖細胞系列化

ＩｇＧ仲介性自己免疫疾患を治療するために用いられる抗体は、複数回投与に用いることができる。治療抗体の免疫原性を低下させる予防措置としては、抗体（特にＦａｂ）のフレームワーク領域の１つ以上の非生殖細胞系アミノ酸を対応する生殖細胞系アミノ酸（例えば結合特性が実質的に保持されている限り）に戻すことが挙げられる。

【０２２６】

抗体の可変領域を１つ以上の生殖細胞系配列に更に類似させるために、ＦｃＲｎに結合する抗体（例えば、本明細書中に記載される抗体）を改変し得る。例えば、抗体は、１つ、２つ、３つ又はそれ以上のアミノ酸置換を、例えばフレームワーク、ＣＤＲ又は定常領域中に含み、それを参照生殖細胞系配列に更に類似させることができる。１つの例示的な生殖細胞系化の方法は、単離された抗体の配列に類似する（例えば、特定のデータベースで最も類似する）１つ以上の生殖細胞系配列を同定することを包含し得る。次いで（アミノ酸レベルでの）変異を、付加的に、又は他の突然変異と組み合わせて単離された抗体中に引き起こし得る。例えば、幾つか又は全ての可能な生殖細胞系変異をコードする配列を含む核酸ライブラリを作製する。次いで、変異抗体を評価して、例えば、単離抗体に対して１つ以上の更なる生殖細胞系残基を有し、且つ依然として有用である（例えば、機能的な活性を有する）抗体を同定する。１つの実施形態において、できるだけ多くの生殖細胞系残基を単離抗体に導入する。

【０２２７】

１つの実施形態において、変異誘発を使用して、１つ以上の生殖細胞系残基を置換するか又はフレームワーク領域及び／又は定常領域に挿入する。例えば、生殖細胞系フレームワーク領域及び／又は定常領域残基は、改変される可変領域に対して類似（例えば、最も類似）する生殖細胞系配列由来であり得る。変異誘発後、抗体の活性（例えば、結合又は他の機能的な活性）を評価して、生殖細胞系残基（単数又は複数）が許容される（例えば活性を抑制しない）かどうかを決定し得る。類似の変異誘発をフレームワーク領域内で実施し得る。

【０２２８】

生殖細胞系配列の選択は異なる方法で実施し得る。例えば、生殖細胞系配列が、選択性又は類似性についての所定の基準、例えば、少なくともある程度の同一性％、例えば少なくとも７５％、８０％、８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％又は９９．５％の同一性を満たす場合、この生殖細胞系配列を選択し得る。選択は、少なくとも２、３、５又は１０の生殖細胞系配列を使用して実施し得る。ＣＤＲ１及びＣＤＲ２の場合、類似の生殖細胞系配列の同定は、そのような１つの配列を選択することを含み得る。ＣＤＲ３の場合、類似の生殖細胞系配列の同定は、

そのような１つの配列を選択することを含み得るが、アミノ末端部分及びカルボキシ末端部分に別個に寄与する２つの生殖細胞系配列の使用を含み得る。他の実施において、２つ又は３つ以上の生殖細胞系配列を、例えば共通配列を形成するために使用する。

【０２２９】

１つの実施形態において、特定の参照可変ドメイン配列、例えば本明細書中に記載される配列に関して、関連可変ドメイン配列は、参照ＣＤＲ配列中の残基（ヒト生殖細胞系配列（即ち、ヒト生殖細胞系核酸によりコードされるアミノ酸配列）中の対応する位置の残基と同一である残基）と同一でないＣＤＲアミノ酸位置の少なくとも３０％、４０％、５０％、６０％、７０％、８０％、９０％、９５％又は１００％を有する。

【０２３０】

１つの実施形態において、特定の参照可変ドメイン配列、例えば本明細書中に記載される配列に関して、関連可変ドメイン配列が、ヒト生殖細胞系配列、例えば、参照可変ドメイン配列に関連する生殖細胞系配列のＦＲ配列に同一であるＦＲ領域の少なくとも３０％、５０％、６０％、７０％、８０％、９０％又は１００％を有する。

【０２３１】

したがって、対象の所与の抗体に類似の活性を有するが、１つ以上の生殖細胞系配列、特に１つ以上のヒト生殖細胞系配列に更に類似する抗体を単離し得る。例えば、抗体はＣＤＲ（例えばフレームワーク領域）以外の領域中の生殖細胞系配列に少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、９９．５％同一であり得る。更に、抗体は、改変される可変領域に類似する（例えば、最も類似する）生殖細胞系配列由来の生殖細胞系残基である、ＣＤＲ領域中の少なくとも１個、２個、３個、４個又は５個の生殖細胞系残基を含み得る。主要な対象生殖細胞系配列はヒト生殖細胞系配列である。抗体の活性（例えば、結合活性）は元の抗体の１００倍、１０倍、５倍、２倍、０．５倍、０．１倍及び０．００１倍の範囲内であり得る。

【０２３２】

V_κの例示的生殖細胞系参照配列として、Ｏ１２／Ｏ２、Ｏ１８／Ｏ８、Ａ２０、Ａ３０、Ｌ１４、Ｌ１、Ｌ１５、Ｌ４／１８ａ、Ｌ５／Ｌ１９、Ｌ８、Ｌ２３、Ｌ９、Ｌ２４、Ｌ１１、Ｌ１２、Ｏ１１／Ｏ１、Ａ１７、Ａ１、Ａ１８、Ａ２、Ａ１９／Ａ３、Ａ２３、Ａ２７、Ａ１１、Ｌ２／Ｌ１６、Ｌ６、Ｌ２０、Ｌ２５、Ｂ３、Ｂ２、Ａ２６／Ａ１０及びＡ１４が挙げられる。例えばＴｏｍｌｉｎｓｏｎ　ｅｔ　ａｌ．，１９９５，ＥＭＢＯ　Ｊ．１４（１８）：４６２８－３を参照されたい。

【０２３３】

ＨＣ可変ドメインについての生殖細胞系参照配列は、特定の標準構造、例えば、Ｈ１及びＨ２超可変ループ中の１～３構造物を有する配列に基づき得る。免疫グロブリン可変ドメインの超可変ループの標準構造を、Ｃｈｏｔｈｉａ　ｅｔ　ａｌ．，１９９２，Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．２２７：７９９－８１７；Ｔｏｍｌｉｎｓｏｎ　ｅｔ　ａｌ．，１９９２，Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．２２７：７７６－７９８）；及びＴｏｍｌｉｎｓｏｎ　ｅｔ　ａｌ．，１９９５，ＥＭＢＯ　Ｊ．１４（１８）：４６２８－３８に記載のようにその配列から推測し得る。１～３構造を有する例示的配列として：ＤＰ－１、ＤＰ－８、ＤＰ－１２、ＤＰ－２、ＤＰ－２５、ＤＰ－１５、ＤＰ－７、ＤＰ－４、ＤＰ－３１、ＤＰ－３２、ＤＰ－３３、ＤＰ－３５、ＤＰ－４０、７－２、ｈｖ３００５、ｈｖ３００５ｆ３、ＤＰ－４６、ＤＰ－４７、ＤＰ－５８、ＤＰ－４９、ＤＰ－５０、ＤＰ－５１、ＤＰ－５３及びＤＰ－５４が挙げられる。

【０２３４】

リガンド産生

標準的な組換え核酸法を使用して、ＦｃＲｎに結合する抗体を発現し得る。一般的に、抗体をコードする核酸配列を、核酸発現ベクターにクローニングする。無論抗体が複数のポリペプチド鎖を含む場合、各鎖を発現ベクター、例えば同じ又は異なる細胞で発現される同じ又は異なるベクターにクローニングし得る。

【０２３５】

抗体産生　一部の抗体（例えば、Ｆａｂ）を、細菌細胞（例えば、Ｅ．ｃｏｌｉ細胞）中で産生し得る。例えば、Ｆａｂが、ディスプレー実体とバクテリオファージタンパク質（又はその断片）との間の抑制可能な終止コドンを含むファージディスプレーベクター中の配列によりコードされている場合、ベクター核酸を、終止コドンを抑制し得ない細菌細胞中に移すことができる。この場合Ｆａｂは、遺伝子ＩＩＩタンパク質に融合せず、周辺質及び／又は培地中に分泌される。

【０２３６】

抗体はまた、真核細胞中で産生され得る。１つの実施形態において、これらの抗体（例えば、ｓｃＦｖ）は酵母細胞、例えばＰｉｃｈｉａ（例えば、Ｐｏｗｅｒｓ　ｅｔ　ａｌ．，２００１，Ｊ　Ｉｍｍｕｎｏｌ　Ｍｅｔｈｏｄｓ．２５１：１２３－３５を参照）、Ｈａｎｓｅｕｌａ又はＳａｃｃｈａｒｏｍｙｃｅｓ中で発現される。

【０２３７】

１つの実施形態において、抗体は哺乳動物細胞で産生される。クローン抗体又はその抗原結合断片を発現させるための哺乳動物宿主細胞として、チャイニーズハムスター卵巣（ＣＨＯ細胞）（Ｕｒｌａｕｂ　ａｎｄ　Ｃｈａｓｉｎ，１９８０，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ　７７：４２１６－４２２０に記載のｄｈｆｒ－ＣＨＯ細胞を含み、例えばＫａｕｆｍａｎ　ａｎｄ　Ｓｈａｒｐ，１９８２，Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．１５９：６０２－６２１に記載のようにＤＨＦＲ選択可能マーカーとともに使用される）、リンパ球細胞株、例えば、ＮＳ０骨髄腫細胞及びＳＰ２細胞、ＣＯＳ細胞、及びトランスジェニック動物、例えばトランスジェニック哺乳動物由来の細胞が挙げられる。例えば、細胞は乳腺の外皮細胞である。

【０２３８】

多様な免疫グロブリンドメインをコードする核酸配列に加えて、組換え発現ベクターは、宿主細胞中のベクターの複製を調節する配列（例えば、複製開始点）及び選択可能マーカー遺伝子等の付加的な配列を有し得る。選択可能マーカー遺伝子は、ベクターが導入される宿主細胞の選択を容易にする（例えば、米国特許第４，３９９，２１６号、米国特許第４，６３４，６６５号及び米国特許第５，１７９，０１７号を参照）。例えば、典型的には、選択可能マーカー遺伝子は、ベクターが導入された宿主細胞に、Ｇ４１８、ハイグロマイシン又はメトトレキサート等の薬剤に対する耐性を付与する。選択可能マーカー遺伝子として、ジヒドロ葉酸レダクターゼ（ＤＨＦＲ）遺伝子（メトトレキサート選択／増幅によるｄｈｆｒ－宿主細胞における使用のため）及びｎｅｏ遺伝子（Ｇ４１８選択のため）が挙げられる。

【０２３９】

抗体又はその抗原結合部分の組換え発現の例示的な系において、抗体重鎖及び抗体軽鎖の両方をコードする組換え発現ベクターを、リン酸カルシウム媒介トランスフェクションによりｄｈｆｒ－ＣＨＯ細胞に導入する。組換え発現ベクター内で、抗体重鎖及び軽鎖の遺伝子を、エンハンサー／プロモーター調節要素（例えば、ＳＶ４０、ＣＭＶ、アデノウイルス等に由来するもの、例えばＣＭＶエンハンサー／ＡｄＭＬＰプロモーター調節要素又はＳＶ４０エンハンサー／ＡｄＭＬＰプロモーター調節要素）にそれぞれ機能可能に連結させて遺伝子の高レベルの転写を駆動する。組換え発現ベクターはまた、ＤＨＦＲ遺伝子を有し、これはこのベクターをトランスフェクトしたＣＨＯ細胞の、メトトレキセート選択／増幅を使用した選択を可能とする。選択された形質転換宿主細胞を培養して抗体重鎖及び軽鎖を発現させ、完全な抗体を培養培地から回収する。標準的な分子生物学技術を使用して、組換え発現ベクターを調製し、宿主細胞にトランスフェクトし、形質転換体を選択し、宿主細胞を培養し、抗体を培養培地から回収する。例えば、一部の抗体は、プロテインＡ又はプロテインＧをカップリングしたマトリクスによるアフィニティークロマトグラフィーにより単離し得る。

【０２４０】

Ｆｃドメインを含む抗体では、抗体産生系は、Ｆｃ領域がグリコシル化されている抗体を産生し得る。例えば、ＩｇＧ分子のＦｃドメインは、ＣＨ２ドメイン中のアスパラギン

２９７でグリコシル化されている。このアスパラギンは、二分岐型のオリゴ糖による修飾部位である。このグリコシル化はＦｃγ受容体及び補体Ｃ１ｑにより媒介されるエフェクター機能に必要とされることが示されている（Ｂｕｒｔｏｎ ａｎｄ Ｗｏｏｆ，１９９２，Ａｄｖ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．５１：１－８４；Ｊｅｆｆｅｒｉｓ ｅｔ ａｌ．，１９９８，Ｉｍｍｕｎｏｌ．Ｒｅｖ．１６３：５９－７６）。１つの実施形態において、Ｆｃドメインは、アスパラギン２９７に対応する残基を適切にグリコシル化する哺乳動物発現系で生成される。Ｆｃドメインはまた、他の真核翻訳後修飾を含み得る。

【０２４１】

抗体はまた、トランスジェニック動物により生成され得る。例えば、米国特許第５，８４９，９９２号は、トランスジェニック哺乳動物の乳腺で抗体を発現させる方法を記載している。乳特異的プロモーター、並びに対象抗体及び分泌のためのシグナル配列をコードする核酸を含む導入遺伝子が構築される。そのようなトランスジェニック哺乳動物の雌により産生される乳は、そこで分泌された対象抗体を含んでいる。この抗体を乳から精製してもよく、又は一部の利用においては直接的に使用してもよい。

【０２４２】

トランスジェニックマウスを作製する方法の１つは、以下の通りである。簡潔に述べると、抗体をコードする標的コンストラクトを受精卵母細胞の雄性前核に微量注入する。生存可能な仔の発生のために卵母細胞を偽妊娠仮親の子宮に注入する。一部の子孫に導入遺伝子が組み込まれる。

【０２４３】

ＦｃＲｎ候補抗体のアッセイ系

ＦｃＲｎ候補抗体は、インビトロ又はインビボにおけるＦｃＲｎ又はその断片に対する前記抗体の調節活性を測定するアッセイで更に特徴付けることができる。例えば、ＦｃＲｎは、非特異的ＩｇＧ又はＩｇＧのＦｃ部分又はアルブミン等の基質と、ＦｃＲｎと基質との反応を可能にするアッセイ条件下で組み合わせることができる。アッセイは、ＦｃＲｎ候補抗体の非存在下、及び漸増濃度のＦｃＲｎ候補抗体の存在下で実施される。ＦｃＲｎ活性（基質への結合）の５０％が候補抗体により阻害される候補抗体の濃度が、その抗体のIC_{50}値（阻害濃度５０％）又はEC_{50}（有効濃度５０％）である。一連の候補抗体又は候補抗体群の中で、低いIC_{50}又はEC_{50}値を有する抗体が、高いIC_{50}又はEC_{50}値を有する抗体よりも、ＦｃＲｎのより強力な阻害剤であるとみなされる。幾つかの実施形態では、抗体は、ＦｃＲｎ活性の阻害に関するインビトロアッセイで測定したとき、８００ｎＭ、４００ｎＭ、１００ｎＭ、２５ｎＭ、５ｎＭ，１ｎＭ又はそれ未満のIC_{50}値を有する。

【０２４４】

候補抗体はまた、ＦｃＲｎに対する選択性についても評価することができる。例えば、ＦｃＲｎ候補抗体は、ＦｃＲｎ及びβ２Ｍドメインを利用する受容体等の細胞表面受容体のパネルに対する効力についてアッセイすることができ、IC_{50}値又はEC_{50}値は各受容体タンパク質について決定することができる。１つの実施形態では、ＦｃＲｎに対して低IC_{50}値又はEC_{50}値を示す化合物、及び試験パネル（例えばＭＨＣクラスＩ分子）内の他の受容体に対して高IC_{50}値又はEC_{50}値を示す化合物は、ＦｃＲｎに対して選択的であるとみなされる。

【０２４５】

エキソビボで内因性ＦｃＲｎを発現している内皮細胞又は上皮細胞を用いて、様々なｐＨ及び温度条件下で候補抗体のエンドサイトーシス又はトランスサイトーシスを追跡することができる。ＩｇＧのトランスサイトーシス又はＦｃＲｎによる再生は、種々の化学物質の存在又は非存在下、及び細胞内輸送経路に影響を及ぼす又は作用することが知られている様々な条件下で、標識抗体を追跡することにより測定できる。

【０２４６】

ラット、マウス、又はサルにおける薬物動態研究を、血清中の半減期を測定するために、ｐＨに依存してＦｃＲｎに結合する抗体、及びｐＨに依存せずにＦｃＲｎに結合する抗

体と共に実施することができる。同様に抗体の保護効果を、標識ＩｇＧ若しくはＩｇＧの標識Ｆｃ部分の存在下若しくは非存在下で抗体を注入することにより、免疫調節療法における利用可能性、又は救援免疫療法としての利用可能性についてインビボで評価することができる。候補抗体の存在下における標識ＩｇＧ／Ｆｃの半減期の短縮は、抗体の治療効果の指標である。

【０２４７】

医薬組成物

他の態様において、本開示は、組成物、例えば薬学的に許容可能な組成物又は医薬組成物であって、ＦｃＲｎ結合抗体を含む組成物を提供する。ＦｃＲｎ結合抗体は薬学的に許容できる担体と共に配合してもよい。医薬組成物は、治療用組成物と診断用組成物、例えばインビボ画像化のための標識ＦｃＲｎ結合抗体を含む組成物とを含む。

【０２４８】

薬学的に許容可能な担体には、任意の、そして全ての溶媒、分散培地、コーティング、抗細菌及び抗真菌剤、等張及び吸収遅延剤、生理学的に適合可能な類似のものが含まれる。好ましくは、担体は、静脈内、筋肉内、皮下、非経口、脊髄又は末梢投与（例えば注射又は注入による）のために好適である。投与経路に依存して、ＦｃＲｎ結合抗体を、物質内にて、酸の作用、及び化合物を不活性化する他の天然の条件から化合物を保護するために、その表面を覆ってもよい。

【０２４９】

薬学的に許容可能な塩は、親化合物の所望の生物学的活性を保持しているが、任意の不所望の毒性効果を与えない塩である（例えば、Ｂｅｒｇｅ，Ｓ．Ｍ．　ｅｔ　ａｌ．，１９７７，Ｊ．Ｐｈａｒｍ．Ｓｃｉ．６６：１－１９を参照のこと）。そのような塩の例には、酸添加塩及び塩基添加塩が含まれる。酸添加塩には、塩酸、硝酸、リン酸、硫酸、臭化水素、ヨウ化水素、リン等のような、非毒性無機酸に由来するもの、並びに、脂肪酸一及び二炭酸塩、フェニル置換アルカン酸、ヒドロキシアルカン酸、芳香族酸、脂肪及び芳香スルホン酸等のような、非毒性有機酸に由来するものが含まれる。塩基添加塩には、ナトリウム、カリウム、マグネシウム、カルシウム等のようなアルカリ土類金属に由来するもの、並びにＮ，Ｎ’－ジベンジルエチレンジアミン、Ｎ－メチルグルカミン、クロロプロカイン、コリン、ジエタノールアミン、エチレンジアミン、プロカイン等のような、非毒性有機アミンに由来するものが含まれる。

【０２５０】

組成物は、種々の形態であり得る。これらには、例えば、液体溶液（例えば注射可能及び注入可能溶液）、分散液又は懸濁液、錠剤、丸剤、粉末、リポソーム及び座剤のような、液体、半固体、固体投与形態が含まれる。形態は、意図した投与形態及び治療適用に依存し得る。多くの組成物は、ヒトの投与のために抗体とともに使用されるものと同一の組成物のような、注射可能又は注入可能溶液の形態である。代表的な投与様式は、非経口（例えば、静脈内、皮下、腹腔内、筋肉内）である。１つの実施形態においてＦｃＲｎ結合抗体は、静脈内注入又は注射によって投与される。別の実施形態において、ＦｃＲｎ結合抗体は、筋肉内又は皮下注射によって投与される。

【０２５１】

組成物は、溶液、ミクロエマルジョン、分散液、リポソーム又は高薬剤濃度に好適な他の規則化された構造として処方可能である。無菌注射可能溶液は、適切な溶媒中の活性化合物（即ちリガンド）を、必要な量で、上記で列挙した成分１つ又は組み合わせを含む溶媒中に組み入れ、必要なときに、続いて濾過滅菌することによって調製可能である。一般的に、分散液は、活性化合物を、塩基性分散培地及び以上で列記したものからの必要な他の成分を含む無菌賦形剤内に組み込むことによって調製する。無菌注射可能溶液の調製のための無菌粉末の場合、調製方法は、活性成分及び既に滅菌濾過したその溶液からの任意の更なる所望の成分の粉末を生成する、吸引乾燥及び凍結乾燥である。溶液の適切な流動性を、例えば、レシチンのようなコーティングの使用によって、分散液である場合は、要求された粒子サイズの維持によって、及び界面活性剤の使用によって、維持可能である。

組成物中に、吸収を遅らせる薬剤、例えば一ステアリン酸塩及びゼラチンを含むことによって、注射可能組成物の長期の吸収を実現可能である。

【０２５２】

ＦｃＲｎ結合抗体は、当該技術分野で既知の種々の方法によって投与可能であるが、多くの用途では投与経路／様式は静脈内注射又は注入である。例えば、治療的用途では、約１～１００ｍｇ／ｍ^{2}又は７～２５ｍｇ／ｍ^{2}の用量に到達するために、ＦｃＲｎ結合抗体を、３０、２０、１０、５又は１ｍｇ／分以下の速度で静脈内注入によって投与可能である。投与経路及び／様式は、所望の結果に依存して変化し得る。特定の実施形態において、活性化合物を、インプラント及び微小カプセル伝達系のような放出制御処方のような、化合物を急速な放出から保護する担体とともに調製し得る。エチレンビニル酢酸、ポリ無水物、ポリグリコリン酸、コラーゲン、ポリオルトエステル類、及びポリ酪酸のような、生物分解性、生物適合性ポリマーを、使用可能である。そのような処方の調製のための多くの方法は、特許出願されており、一般的に既知である。例えば、Ｓｕｓｔａｉｎｅｄ ａｎｄ Ｃｏｎｔｒｏｌｌｅｄ Ｒｅｌｅａｓｅ Ｄｒｕｇ Ｄｅｌｉｖｅｒｙ Ｓｙｓｔｅｍｓ，Ｊ．Ｒ．Ｒｏｂｉｎｓｏｎ，ｅｄ．，Ｍａｒｃｅｌ Ｄｅｋｋｅｒ，Ｉｎｃ．，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ，１９７８を参照のこと。

【０２５３】

ある実施形態において、抗体は、例えば、不活性希釈剤又は吸収可能な食用担体とともに、経口投与してよい。化合物（及び必要に応じて他の成分）はまた、硬質又は軟質シェルゼラチンカプセル内に封入してもよく、錠剤に圧縮してもよく、又は対象の食事に直接組み込んでもよい。経口治療用途のために、化合物を、賦形剤と共に組み込み、摂取可能錠剤、バッカル剤、トローチ、カプセル、エリキシル、懸濁液、シロップ、ウエハー等の形態で使用してもよい。非経口投与以外によって本明細書に開示される化合物を投与するために、化合物をその不活性化を予防する物質でコーティングする、又は化合物を前記物質と同時に投与することが必要である場合がある。

【０２５４】

医薬組成物は、本技術分野で既知の医療用具で投与可能である。例えば、１つの実施形態において、本明細書に開示される医薬組成物は、装置、例えば針を必要としない皮下注射器具、ポンプ、又はインプラントで投与可能である。

【０２５５】

ある実施形態において、ＦｃＲｎ結合抗体を、インビボにて、正確な分布を保証するために処方可能である。例えば、血液脳関門（ＢＢＢ）は多くの高い親水性の化合物を排除する。本明細書に開示される治療化合物が、（必要に応じて）ＢＢＢを通過することを保証するために、例えばリポソーム内で処方可能である。リポソームを製造する方法に関しては、例えば、米国特許第４，５２２，８１１号、第５，３７４，５４８号及び第５，３９９，３３１号を参照のこと。リポソームは、特定の細胞又は器官に選択的に輸送され、従って、標的化薬剤送達を増強する１つ又はそれ以上の部分を含み得る（例えば、Ｖ．Ｖ．Ｒａｎａｄｅ，１９８９，Ｊ．Ｃｈｉｎ．Ｐｈａｒｍａｃｏｌ．２９：６８５を参照のこと）。

【０２５６】

投与計画は、最適な所望の応答（例えば、治療応答）を得るために調節される。例えば、単一ボーラスを投与してもよく、いくつかに分割した用量を時間をかけて投与してよく、又は治療状況の要件によって示唆されたとき、用量を比例的に減少又は増加させてもよい。投与及び用量の均一性を容易にするため、単位剤形にて、非経口組成物を処方することは特に有利である。本明細書で使用する、単位剤形は、治療すべき対象に対して、単一用量として好適な物理的に分離された単位を指し、各単位は、所望の治療効果が必要な薬理学的担体とともに生じるように計算され、所定の量の活性化合物を含む。単位剤形の仕様は、（ａ）活性化合物の固有の特性及び達成されるべき特定の治療効果、及び（ｂ）個体における感受性の治療に関する、そのような化合物を調合する技術分野に内在する制限によって決定され、それらに直接依存し得る。

【０２５７】
本明細書に開示される抗体の、治療的又は予防的に効果的な量の、限定はされない、例示的な範囲は、０．１～２０ｍｇ／ｋｇ、又は１～１０ｍｇ／ｋｇである。抗ＦｃＲｎ抗体は、３０、２０、１０、５又は１ｍｇ／分未満の速度にて、約１～１００ｍｇ／ｍ^{2}又は約５～３０ｍｇ／ｍ^{2}の用量に達するように、静脈内注入によって投与可能である。用量値は、軽減されるべき状態の種類及び重症度とともに変化し得る。任意の特定の対象に対して、特定の投与計画は、個体の必要性、及び投与している又は組成物の投与を管理している人物の専門の判断に従って、経時的に調整することができる。

【０２５８】
本明細書に開示される医薬組成物は、治療的に有効な量又は予防的に有効な量の本明細書に開示されるＦｃＲｎ結合抗体を含み得る。「治療的に有効な量」は、必要な投与量及び期間において、所望の治療結果を得る、有効な量を意味する。組成物の治療的に有効な量は、疾患状態、個体の年齢、性別及び体重のような要因、個体における所望の応答を誘発するための、抗体の能力に従って変化する。治療的に有効な量はまた、治療的に有益な効果が、化合物の毒性又は有害な効果より上回るものである。

【０２５９】
安定化及び保持
１つの実施形態において、ＦｃＲｎ結合抗体を、循環中、例えば血液、血清、リンパ液又は他の組織中で、その安定化及び／又は保持を例えば少なくとも１．５、２、５、１０、又は５０倍に向上させる部分と物理的に会合させる。例えば、ＦｃＲｎ結合抗体を、ポリマー、例えば、実質的に非抗原性のポリマー（例えば、ポリオキシアルキレンオキシド又はポリエチレンオキシド）と会合させ得る。適切なポリマーの重量は、大幅に変化する。約２００～約３５，０００（又は約１，０００～約１５，０００、及び２，０００～約１２，５００）の範囲の数平均分子量を有するポリマーを用いることができる。例えば、ＦｃＲｎ結合抗体を、水溶性ポリマー、例えば親水性ポリビニルポリマー、例えばポリビニルアルコール及びポリビニルピロリドンと複合化させ得る。そのようなポリマーの非限定的なリストは、ポリアルキレンオキシドホモポリマー、例えば、ポリエチレングリコール（ＰＥＧ）又はポリプロピレングリコール、ポリオキシエチレン化ポリオール、その共重合体及びそのブロック共重合体（但し、ブロック共重合体の水溶性は維持されている）を含む。

【０２６０】
キット
本明細書に記載されるＦｃＲｎ結合抗体は、キットで、例えばキットの構成要素として提供されてもよい。例えばキットは、（ａ）ＦｃＲｎ結合抗体、例えばＦｃＲｎ結合抗体を含む組成物と、任意的に（ｂ）情報資料と、を含む。情報資料は、本明細書に記載する方法及び／又は本明細書に記載する方法のためのＦｃＲｎ結合抗体の使用に関する説明的な、指令的な、マーケティング上の、又は他の資料であり得る。

【０２６１】
キットの情報資料はその形態において制限されない。１つの実施形態では、情報資料は、化合物の製造、化合物の分子量、濃度、有効期限日、バッチ又は製造場所の情報等についての情報を含み得る。１つの実施形態では、情報資料は、本明細書に記載される障害、例えば自己免疫障害を治療、予防、又は診断するための抗体の使用に関する。

【０２６２】
１つの実施形態では、情報資料は、ＦｃＲｎ結合抗体を本明細書に記載される方法を実施するのに適当な方法で、例えば適当な用量、剤形、又は投与様式（例えば、本明細書に記載する用量、剤形、又は投与様式）で投与するための説明書を含むことができる。１つの実施形態では、情報資料は、適当な被験者、例えばヒト、例えば自己免疫障害（例えば関節リウマチ又は全身性エリテマトーデス）に罹患しているか、或いはそのリスクがあるヒトにＦｃＲｎ結合抗体を投与するための説明書を含むことができる。例えば、資料は、紅斑患者又は別の自己免疫障害患者にＦｃＲｎ結合抗体を投与するための説明書を含んで

もよい。

【０２６３】

キットの情報資料はその形態において制限されない。多くの場合に、情報資料、例えば使用説明書は、印刷物として、例えば印刷した文、図面、及び／又は写真として、例えばラベル又は印刷シートとして提供される。しかし、情報資料は他の形式で提供されてもよく、例えば、コンピュータ読み取り可能媒体、ビデオ録画、又は音声録音等がある。１つの実施形態では、キットの情報資料は問い合わせ先情報であって、例えば物理的な住所、ｅメールアドレス、ウェブサイト、又は電話番号等を含むことができ、この場合、キットのユーザはＦｃＲｎ結合抗体及び／又は本明細書に記載する方法でのその使用に関する実質的な情報を得ることができる。無論情報資料は任意に組み合わせた形式で提供されてもよい。

【０２６４】

ＦｃＲｎ結合抗体に加えて、キットの組成物は他の成分を含むこともでき、例えば溶媒若しくはバッファー、安定剤、防腐剤、風味剤（例えば苦味遮断剤又は甘味剤）、香料、又は他の化粧用成分、及び／又は本明細書に記載する自己免疫障害（例えば、関節リウマチ又は全身性エリテマトーデス）を治療するための第２の薬剤を含み得る。或いはまた、そのような他の成分をキットに含んでもよいが、ＦｃＲｎ結合抗体を含む組成物とは異なる組成物又は容器内に含んでもよい。そのような実施形態では、キットは、ＦｃＲｎ結合抗体と他の成分とを混ぜ合わせるための、又はＦｃＲｎ結合抗体を他の成分と一緒に使用するための説明書を含むことができる。

【０２６５】

ＦｃＲｎ結合抗体は任意の形態、例えば液体、乾燥形態、又は凍結乾燥形態で提供することができる。ＦｃＲｎ結合抗体は実質的に純粋及び／又は無菌であることが好ましい。ＦｃＲｎ結合抗体が液体の溶液で提供される場合、好ましくは、その溶液は水溶液であり、無菌の水溶液が好適である。ＦｃＲｎ結合抗体が乾燥形態として提供される場合には、一般的に、適当な溶媒の添加により再構成を行う。任意的に溶媒（例えば、無菌の水又はバッファ）をキットに入れて提供してもよい。

【０２６６】

キットはＦｃＲｎ結合抗体を含有する組成物用の容器を１個以上含み得る。幾つかの実施形態では、キットは組成物用と情報資料用の別個の容器、仕切り、又は区画を含む。例えば、組成物を瓶、バイアル若しくはシリンジに入れ、情報資料をプラスチックスリーブ若しくはパケットに入れることができる。他の実施形態では、キットの別個の要素を分割されていない単一容器に収める。例えば、組成物を瓶、バイアル若しくはシリンジに入れるが、この容器には情報資料がラベルの形で貼り付けてある。幾つかの実施形態では、キットは複数（例えば、１パックの）の個々の容器を含み、各容器がＦｃＲｎ結合抗体の１個以上の単位剤形（例えば、本明細書に記載の剤形）を含む。例えば、キットは複数のシリンジ、アンプル、フォイルパケット、又はブリスターパックを含み、各々が１単位用量のＦｃＲｎ結合抗体を含む。キットの容器は気密性、耐水性（水分の変化又は蒸発に対して不透過性）、及び／又は耐光性であり得る。

【０２６７】

キットは、所望により組成物の投与に好適な装置、例えばシリンジ、吸入器、ピペット、鉗子、計測スプーン、点滴器（例えば点眼器）、スワブ（例えば綿スワブ又は木スワブ）、又は任意のかかる送達装置を含む。１つの実施形態では、装置は定量の抗体を分配する埋め込み型装置である。本開示はまた、例えば本明細書に記載される構成要素を組み合わせることによりキットを提供する方法を特徴とする。

【０２６８】

治療

ＦｃＲｎに結合し、本明細書に記載される、及び／又は本明細書に詳述される方法により同定される抗体は、治療及び予防的有用性を有する。これらの抗体を対象に投与して、自己免疫障害を含む種々の障害を治療、予防、及び／又は診断することができる、又は例

えばインビトロ若しくはエキソビボで培養物中の細胞にさえも接種することができる。
【０２６９】
用語「治療」は、統計的に有意な程度又は当業者が検出可能な程度に、障害に関連する状態、症状、若しくはパラメータを改善する、又は障害の進行を阻止するのに有効な量、方法、及び／又は様式で療法を投与することを指す。有効な量、方法、又は様式は、対象によって変化し得、対象に合わせて調整することができる。対象は、ヒト又は非ヒト動物、例えば非ヒト哺乳類であってもよい。
【０２７０】
ＦｃＲｎ結合抗体は、治療的に有効な量で、例えば対象に単用量又は多用量を投与したとき、対象が障害、例えば自己免疫障害（例えば関節リウマチ又は全身性エリテマトーデス）の症状、又は障害の存在若しくはリスクの指標となるパラメータの改善を示すように、投与することができる。
【０２７１】
体内の多くの器官に影響を及ぼす、又は器官に局在する代表的な障害としては、多発性硬化症、関節リウマチ、炎症性腸疾患（ＩＢＤ）、紅斑、及び強直性脊椎炎が挙げられる。これらの障害の一部を以下に論じる。１つの態様では、本発明は癌の治療方法を提供する。ＦｃＲｎ結合抗体を用いて治療することができる更に他の障害としては、強皮症、シェーグレン症候群、グッドパスチャー症候群、ウェゲナー肉芽腫症、リウマチ性多発筋痛症、側頭動脈炎／巨細胞動脈炎、円形脱毛症、強直性脊椎炎、抗リン脂質症候群、自己免疫性アジソン病、自己免疫性溶血性貧血、自己免疫性肝炎、自己免疫性内耳疾患、自己免疫性リンパ球増殖性症候群（ＡＬＰＳ）、自己免疫性血小板減少性紫斑病（ＡＴＰ）、ベーチェット病、水疱性類天疱瘡、心筋障害、セリアックスプルー皮膚炎、慢性疲労症候群免疫不全症候群（ＣＦＩＤＳ）、慢性炎症性脱髄性多発神経障害、瘢痕性類天疱瘡、寒冷凝集素症、クレスト症候群、クローン病、ドゴー病、皮膚筋炎、若年性皮膚筋炎、円板状紅斑、クリオグロブリン血症、線維筋痛、線維筋炎、グレーブス病、ギランバレー症候群、橋本甲状腺炎、特発性肺線維症、特発性血小板減少性紫斑病（ＩＴＰ）、ＩｇＡ腎症、インスリン依存性糖尿病（Ｉ型）、若年性関節炎、メニエール病、混合性結合組織病、重症筋無力症、尋常性天疱瘡、落葉状天疱瘡、腫瘍随伴性天疱瘡、悪性貧血、結節性多発動脈炎、多発性軟骨炎、多腺性自己免疫症候群、リウマチ性多発筋痛症、多発性筋炎、皮膚筋炎、原発性無ガンマグロブリン血症、原発性胆汁性肝硬変、乾癬、レイノー現象、ライター症候群、リウマチ熱、サルコイドーシス、スティッフマン症候群、高安動脈炎、潰瘍性大腸炎、ブドウ膜炎、血管炎、白斑が挙げられる。
【０２７２】
幾つかの実施形態では、抗ＦｃＲｎ結合抗体は、血流から不所望の治療抗体を除去するために投与される。
【０２７３】
幾つかの実施形態では、抗ＦｃＲｎ結合抗体は、抗ＨＬＡ抗体の濃度を抑制するために投与される。幾つかの実施形態では、抗ＨＬＡ抗体の濃度は臓器移植と関連して抑制される。
【０２７４】
ＦｃＲｎ結合抗体の投与方法は、「医薬組成物」に記載されている。用いられる分子の好適な投与量は、対象の年齢及び体重、並びに用いられる具体的な薬剤に依る。抗体は、競合剤として使用して、不所望の相互作用、例えば天然又は病理学的剤とＦｃＲｎとの間の相互作用を阻害する又は低減することができる。
【０２７５】
ＦｃＲｎ結合抗体を用いて、例えば遺伝子治療の目的のために遺伝子を細胞へ、内皮又は上皮へ、及びＦｃＲｎを発現する組織のみを標的として巨大分子又は微小分子を送達することができる。上記抗体は、治療薬、放射線を射出する化合物、植物、真菌、又は細菌起源の分子、生物学的タンパク質、並びにこれらの混合物が含まれる多様な細胞傷害薬を送達するために使用することができる。細胞傷害薬は、短距離放射線放出体（例えば、本

明細書に記載のような短距離、高エネルギーα放射体が含まれる）のように、細胞内で作用する細胞傷害薬であり得る。

【０２７６】

ポリペプチド毒素の場合、組換え核酸技術を使用して、その抗体と細胞毒素（又はそのポリペプチド成分）をコードする核酸を翻訳融合物として構築することができる。次いで、この組換え核酸を例えば細胞中で発現させて、コードされた融合ポリペプチドを単離する。

【０２７７】

或いは、ＦｃＲｎ結合抗体は、高エネルギー放射線放出体、例えば、^{131}Ｉのような放射線同位体、γ放射体へ結合することができ、これは、ある部位に局在化すると、数個の細胞直径の範囲の殺傷をもたらす。例えば、Ｓ．Ｅ．Ｏｒｄｅｒ，“Ａｎａｌｙｓｉｓ，Ｒｅｓｕｌｔｓ，ａｎｄ Ｆｕｔｕｒｅ Ｐｒｏｓｐｅｃｔｉｖｅ ｏｆ ｔｈｅ Ｔｈｅｒａｐｅｕｔｉｃ Ｕｓｅ ｏｆ Ｒａｄｉｏｌａｂｅｌｅｄ Ａｎｔｉｂｏｄｙ ｉｎ Ｃａｎｃｅｒ Ｔｈｅｒａｐｙ”，Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ ｆｏｒ Ｃａｎｃｅｒ Ｄｅｔｅｃｔｉｏｎ ａｎｄ Ｔｈｅｒａｐｙ，Ｒ．Ｗ．Ｂａｌｄｗｉｎ ｅｔ ａｌ．（ｅｄｓ．），ｐｐ３０３ ３１６（Ａｃａｄｅｍｉｃ Ｐｒｅｓｓ １９８５）を参照のこと。他の好適な放射性同位体には、^{212}Ｂｉ、^{213}Ｂｉ、及び^{211}Ａｔのようなα放射体と^{186}Ｒｅ及び^{90}Ｙのようなβ放射体が含まれる。更に、造影剤と細胞傷害剤のいずれとしても^{117}Ｌｕを使用してよい。

【０２７８】

^{131}Ｉ、^{90}Ｙ、及び^{177}Ｌｕで標識した抗体を使用する放射免疫療法（ＲＩＴ）は、鋭意に臨床検討されている。これら３つの核種の物理特性には著しい相違があり、結果として、放射線核種の選択は、対象組織に最大放射線量を送達するのにきわめて重要である。^{90}Ｙのより高いβエネルギー粒子は、嵩高い腫瘍に良好であり得る。^{131}Ｉの相対的に低いエネルギーのβ粒子は理想的であるが、放射ヨウ素化分子のインビボ脱ハロゲン化は、抗体を内部化するのに重大な短所となる。対照的に、^{177}Ｌｕは僅か０．２～０．３ｍｍ範囲の低エネルギーβ粒子を有し、^{90}Ｙに比較して遥かに低い放射線量を骨髄へ送達する。更に、（^{90}Ｙに比較して）物理半減期がより長いことにより、滞留時間はより長い。結果として、より高い活性（より多くのｍＣｉ量）の^{177}Ｌｕ標識剤を比較的少ない放射線量で骨髄へ投与することができる。様々ながんの治療における^{177}Ｌｕ標識抗体の使用について検討した幾つかの臨床試験が存在する（Ｍｕｌｌｉｇａｎ Ｔ ｅｔ ａｌ．，１９９５，Ｃｌｉｎ Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ．１：１４４７－１４５４；Ｍｅｒｅｄｉｔｈ ＲＦ，ｅｔ ａｌ．，１９９６，Ｊ Ｎｕｃｌ Ｍｅｄ ３７：１４９１－１４９６；Ａｌｖａｒｅｚ ＲＤ，ｅｔ ａｌ．，１９９７，Ｇｙｎｅｃｏｌｏｇｉｃ Ｏｎｃｏｌｏｇｙ ６５：９４－１０１）。

【０２７９】

自己免疫を治療するための治療方法の使用には、多くの利点がある。抗体はＦｃＲｎを特異的に認識するため、他の組織が除外され、治療を必要とする部位へ高レベルの薬剤が直接送達される。治療は、臨床パラメータで効果的にモニタリングすることができる。或いは、これらのパラメータを使用して、上記の治療をいつ利用すべきかを指定してよい。

【０２８０】

ＦｃＲｎ結合抗体は、自己免疫障害を治療するために、静脈内ＩｇＧ療法、非ステロイド性抗炎症薬（ＮＳＡＩＤ）、及びコルチコステロイド、並びにシクロスポリン、ラパマイシン、若しくはアスコマイシン、又はこれらの免疫抑制性類似体、例えばシクロスポリンＡ、シクロスポリンＧ、ＦＫ－５０６、ラパマイシン、４０－Ｏ－（２－ヒドロキシ）エチル－ラパマイシン等の抗炎症治療；シクロホスファミド；アザチオプリン；メトトレキサート；ブレキナル；ＦＴＹ７２０；レフルノミド；ミゾリビン；ミコフェノール酸；ミコフェノール酸モフェチル；１５－デオキシスペルグアリン；免疫抑制モノクローナル抗体、例えば白血球受容体（例えば、ＭＨＣ、ＣＤ２、ＣＤ３、ＣＤ４、ＣＤ７、ＣＤ２５、ＣＤ２８、Ｂ７、ＣＤ４５、若しくはＣＤ５８）又はそのリガンドに対するモノクロ

ーナル抗体；或いは他の免疫調節化合物、例えばＣＴＬＡ４Ｉｇ、又は他の接着分子インヒビター、例えばセレクチンアンタゴニスト及びＶＬＡ－４アンタゴニストを含むｍＡｂ又は低分子量阻害剤が挙げられるがこれらに限定されない１種以上の既存のモダリティと併せて投与してもよい。これらの併用療法は、免疫調節投与計画の一部であってもよいし、又は同種若しくは異種移植片の急性若しくは慢性拒絶反応、炎症性疾患、又は自己免疫障害の治療又は予防のための投与計画の一部であってもよい。

【０２８１】

多発性硬化症

多発性硬化症（ＭＳ）は、ミエリン鞘の炎症及び欠損によって特徴付けられる中枢神経系の疾患である。

【０２８２】

ＭＳ診断に関するワークショップによって定義されるような、臨床的に明確なＭＳの診断を確立する基準によって、ＭＳ患者を特定することが可能である（Ｐｏｓｅｒら，Ａｎｎ．Ｎｅｕｒｏｌ．１３：２２７，１９８３）。ＭＳはまた、２回の発作及び脳脊髄液中のＩｇＧの少クローン性バンドによって、或いは発作、２つの病巣の臨床的徴候及び脳脊髄液中の少クローン性バンドの組み合わせによって、診断することも可能である。またＭｃＤｏｎａｌｄ基準を用いてＭＳを診断することもできる。ＭｃＤｏｎａｌｄ ｅｔ ａｌ．，２００１，Ｒｅｃｏｍｍｅｎｄｅｄ ｄｉａｇｎｏｓｔｉｃ ｃｒｉｔｅｒｉａ ｆｏｒ ｍｕｌｔｉｐｌｅ ｓｃｌｅｒｏｓｉｓ：ｇｕｉｄｅｌｉｎｅｓ ｆｒｏｍ ｔｈｅ Ｉｎｔｅｒｎａｔｉｏｎａｌ Ｐａｎｅｌ ｏｎ ｔｈｅ Ｄｉａｇｎｏｓｉｓ ｏｆ Ｍｕｌｔｉｐｌｅ Ｓｃｌｅｒｏｓｉｓ，Ａｎｎ Ｎｅｕｒｏｌ ５０：１２１－１２７。ＭｃＤｏｎａｌｄ基準は、複数の臨床的攻撃の存在下で、ＭＳの診断に用いられる経時的中枢神経機能障害のＭＲＩによる証拠の使用を含む。

【０２８３】

幾つかの異なる方式で、多発性硬化症に有効な治療を評価することも可能である。以下のパラメータを用いて治療の有効性をはかることができる。２つの代表的な基準としては：ＥＤＳＳ（長期身体障害状態スケール）、及びＭＲＩ（磁気共鳴画像化法）における再燃（ｅｘａｃｅｒｂａｔｉｏｎ）の出現が挙げられる。ＥＤＳＳは、ＭＳによる臨床的な機能障害を等級分けする手段である（Ｋｕｒｔｚｋｅ，Ｎｅｕｒｏｌｏｇｙ ３３：１４４４，１９８３）。神経学的機能障害の種類及び重症度に関して、８つの機能系を評価する。簡潔には、治療前に、以下の系の機能障害に関して患者を評価する：錐体、小脳、脳幹、感覚、腸及び膀胱、視覚、大脳、及び他のもの。規定の間隔で、経過観察を行う。スケールは、０（正常）から１０（ＭＳによる死亡）の範囲である。１つの完全な段階の減少は、治療が有効であることを示すことができる（Ｋｕｒｔｚｋｅ，Ａｎｎ．Ｎｅｕｒｏｌ．３６：５７３－７９，１９９４）。

【０２８４】

本明細書に記載される方法で治療することができる、多発性硬化症に関連する典型的な症状には：視神経炎、複視、眼振、眼の測定障害、核間性眼筋麻痺、運動及び音の眼内せん光、求心性瞳孔障害、不全麻痺、単不全麻痺、不全対麻痺、片側不全麻痺、四肢不全麻痺（ｑｕａｄｒａｐａｒｅｓｉｓ）、麻痺（ｐｌｅｇｉａ）、対麻痺、片麻痺、四肢麻痺（ｔｅｔｒａｐｌｅｇｉａ、ｑｕａｄｒａｐｌｅｇｉａ）、痙縮、講語障害、筋萎縮、攣縮、痙攣、低血圧、クローヌス、筋クローヌス、筋波動症、下肢不安症候群、垂足、機能不全反射、錯感覚症、無感覚症、神経痛、神経障害性及び神経原性の痛み、レルミット徴候、固有受容機能不全、三叉神経痛、運動失調症、企図振戦、測定障害、前庭性運動失調、めまい、言語行動失調、筋緊張異常、拮抗運動反復不全、頻尿、膀胱痙縮、膀胱弛緩、排尿筋－膀胱括約筋協調障害、勃起機能障害、性感異常症、冷感症、便秘、便意逼迫、糞便失禁、抑うつ症、認知機能障害、痴呆、躁鬱、感情的不安定性、多幸症、二極性症候群、不安症、失語症、神経性不全失語症、易疲労、ウトホフ症状、胃食道逆流、及び睡眠障害が含まれる。

【０２８５】

ヒト研究に加えて又はヒト研究の前に、動物モデルを用いて２つの剤の使用の有効性を評価することができる。代表的な多発性硬化症の動物モデルは、実験的自己免疫性脳炎（ＥＡＥ）マウスモデルであり、例えば（Ｔｕｏｈｙ　ｅｔ　ａｌ．（Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．，１９８８，１４１：　１１２６－１１３０），Ｓｏｂｅｌ　ｅｔ　ａｌ．（Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．，１９８４，１３２：　２３９３－２４０１）、及びＴｒａｕｇｏｔｔ（Ｃｅｌｌ　Ｉｍｍｕｎｏｌ．，１９８９，１１９：　１１４－１２９）に記載されている。マウスは、ＥＡＥ誘導の前に本明細書に記載される第１の剤及び第２の剤を投与してもよい。次いでマウスを特徴的な基準について評価して、モデルにおける２つの剤の使用の有効性を決定する。

【０２８６】

ＩＢＤ

炎症性腸疾患（ＩＢＤ）は一般的な慢性、再発性胃腸炎を含む。ＩＢＤはクローン疾患と潰瘍性大腸炎の二つの特徴的に異なる疾患を指す。ＩＢＤの臨床的な症状は間歇的な直腸出血、痙攣性腹痛、体重減少及び下痢を含む。潰瘍性大腸炎の臨床活性指数のような臨床的指標がＩＢＤをモニターするために使用され得る（Ｗａｌｍｓｌｅｙ　ｅｔ　ａｌ．Ｇｕｔ．１９９８　Ｊｕｌ；４３（１）：２９－３２及びＪｏｗｅｔｔ　ｅｔ　ａｌ．，２００３，Ｓｃａｎｄ　Ｊ　Ｇａｓｔｒｏｅｎｔｅｒｏｌ．３８（２）：１６４－７１参照）。ＦｃＲｎ結合抗体を用いて、ＩＢＤの少なくとも１つの症状を寛解させる又はＩＢＤの臨床的指標を改善することができる。

【０２８７】

関節リウマチ

関節リウマチは、関節における痛み、腫れ、硬直及び機能喪失を引き起こす自己免疫炎症性疾患である。関節リウマチは対称的なパターンで現れることが多い。この疾患は、手関節、及び、手に最も近い指の関節を冒し得る。この疾患はまた、関節のほかに、身体の他の部分も冒し得る。加えて、関節リウマチに罹患している人々は、疲労、時々の発熱、及び、全身的倦怠を有する場合がある。関節リウマチを診断するための陽性因子には、「リウマチ因子」血中抗体及びシトルリン抗体が含まれる。ＦｃＲｎ結合抗体は、関節リウマチ、或いは、関節リウマチの１つ又は複数の症状を治療、予防又は緩和することにおいて有用であり得る。

【０２８８】

狼瘡

全身性エリテマトーデス（ＳＬＥ）は、様々な身体組織に対する炎症及び損傷をもたらす自己免疫障害である。ＳＬＥは、自身のＤＮＡに向けられた自己抗体によって媒介され得る。狼瘡は、関節、皮膚、腎臓、心臓、肺、血管及び脳をはじめとする身体の多くの部分を冒し得る。様々な症状が現れ得るが、最も一般的な症状のいくつかには、極度の疲労、痛み又は腫脹関節（関節炎）、説明できない発熱、皮膚の発疹、及び、腎臓の問題が含まれる。狼瘡の例示的な症状には、痛み又は腫れのある関節、説明できない発熱、及び、極度の疲労が含まれる。特徴的な赤い皮膚発疹が鼻及び頬の全体に現れる場合がある。発疹はまた、顔及び耳、上腕、肩、胸並びに手にも生じる場合がある。狼瘡の他の症状には、胸の痛み、脱毛、貧血、口内炎、並びに、寒さ及びストレスから生じる蒼白又は紫色の指及びつま先が含まれる。一部の人々はまた、頭痛、めまい、鬱病、錯乱又は発作を経験する。ＳＬＥ診断のための陽性因子には、循環している抗核抗体、抗ＤＮＡ抗体及び抗Ｓｍ抗体が含まれる。ＦｃＲｎ結合抗体は、ＳＬＥ、或いは、ＳＬＥの１つ又は複数の症状を治療、予防又は軽減することにおいて有用であり得る。本明細書に記載される狼瘡は、皮膚ループス及びループス腎炎を含む。

【０２８９】

免疫性血小板減少症（ＩＴＰ）

ＩＴＰは、末梢血小板破壊の増加する疾患であり、患者は特定の血小板膜タンパク質に結合する抗体を産生する。抗血小板抗体は血小板をオプソニン化し、マクロファージによる破壊を導く。ＩＴＰを治療する試みは一般に、血小板濃度の増加を惹起する免疫系の抑

制を含む。ＦｃＲｎ結合抗体は、ＩＴＰ又はその１種以上の症状の治療、予防、又は軽減に有用であり得る。

【０２９０】

強直性脊椎炎

強直性脊椎炎は、脊椎を冒すだけでなく、骨及び関節の周りの腱及び靱帯が炎症し、痛み及び硬直をもたらすように、股関節、肩及び膝もまた冒すことがある自己免疫障害である。強直性脊椎炎は後期思春期又は初期青年期の人々を冒す傾向がある。ＦｃＲｎ結合抗体は、強直性脊椎炎、或いは、その１つ又は複数の症状を治療、予防又は緩和することにおいて有用であり得る。

【０２９１】

天疱瘡

天疱瘡は、粘膜及び皮膚に影響を及ぼす自己免疫障害である。前記障害は、デスモグレインに対する自己抗体の産生を特徴とする。デスモグレインは、カドヘリンファミリーのタンパク質であり、細胞を互いに接合させるデスモソームの形成に関与している。天疱瘡は、３つの種類のうちの１種に分類することができる。尋常性天疱瘡は前記障害の最も一般的な形態であり、自己抗体はデスモグレイン３を標的とする。落葉状天疱瘡では、デスモグレイン１に対する自己抗体が産生される。第３の種類であり、且つ最も少ない障害は腫瘍随伴性天疱瘡であり、自己抗体はデスモプラキンを標的とし、リンパ腫等の癌に関連する。前記障害は一般的に、皮膚の外観によって皮膚専門医により診断され、デスモグレインに対する自己抗体の検出により確認される。治療方法としては、ステロイドの投与、及び／又はＲｉｔｕｘｉｍａｂ（Ｒｉｔｕｘａｎ）等のＣＤ２０抗体の投与が挙げられる。

【０２９２】

癌

本明細書中に使用される「癌」は、体の器官及び系が正常に機能するのを妨害する、細胞の制御されていない成長を指す。それらの本来の位置から移動して、重要器官に種を播く（ｓｅｅｄ）癌は、冒された器官の機能的悪化を介してついには対象の死をもたらし得る。癌腫は、上皮細胞から生じる悪性癌であり、腺癌及び扁平上皮細胞癌が挙げられる。肉腫は結合組織又は支持組織の癌であり、骨肉腫、軟骨肉腫、及び消化管間質腫瘍が挙げられる。白血病等の造血癌は、対象における正常造血コンパートメントにまさることができ、それによって、最終的に死を引き起こす造血不全（貧血、血小板減少、及び好中球減少の形態で）を導く。当業者は、癌を肉腫、癌腫、又は造血癌に分類することができる。

【０２９３】

本明細書で使用するとき、癌としては、以下の種類の癌が挙げられる：乳癌；胆道癌；膀胱癌；神経膠芽腫及び髄芽腫を含む脳癌；頸癌；絨毛腫；結腸癌；子宮体癌；食道癌；胃癌；急性リンパ性白血病及び骨髄性白血病を含む血液腫瘍；Ｔ細胞急性リンパ性白血病／リンパ腫；ヘアリー細胞白血病；慢性骨髄性白血病；多発性骨髄腫；ＡＩＤＳ関連白血病及び成人Ｔ細胞白血病リンパ腫；ボーエン病及びパジェット病を含む上皮内新生物；肝臓癌；肺癌；ホジキン病及びリンパ球性リンパ腫を含むリンパ腫；神経芽細胞腫；扁平上皮癌を含む口腔癌；上皮細胞、間質細胞、生殖細胞、及び間葉細胞から生じる癌を含む卵巣癌；膵臓癌；前立腺癌；直腸癌；平滑筋肉腫、横紋筋肉腫、脂肪肉腫、線維肉腫、及び骨肉腫を含む肉腫；黒色腫、カポジ肉腫、基底細胞癌、及び扁平上皮細胞癌を含む皮膚癌；精上皮腫、非精上皮腫（奇形腫、絨毛腫）、間質腫瘍、及び生殖細胞腫瘍等の胚腫瘍を含む精巣癌；甲状腺癌及び髄様癌を含む甲状腺癌；並びに腺癌及びウィルムス腫瘍を含む腎臓癌。他の癌も当業者に知られている。

【０２９４】

胎児の治療

ＦｃＲｎは、上皮細胞の障壁を通じる母体のＩｇＧの胎児への輸送を仲介する。本明細書に記載される抗体を用いて、巨大分子薬、例えば抗生物質及び／又は小分子を、子宮内の胎児に送達することができる。胎児は、治療を必要とする状態又は障害（例えば腸管感

染症又は代謝障害）に罹患している場合がある。前記状態又は障害を治療するための薬剤又は分子をＦｃＲｎ結合抗体に共役結合させ、子宮内に治療の必要な胎児のいる妊婦に投与してもよい。共役結合化ＦｃＲｎ結合抗体はＦｃＲｎに結合し、それにより胎盤を介して胎児に輸送される。胎児は薬剤又は分子治療を受ける。

【０２９５】

免疫吸着

幾つかの実施形態では、本発明は、個体から不所望の治療抗体を除去する方法を提供する。幾つかの実施形態では、不所望の治療抗体はＩｇＧ抗体である。幾つかの実施形態では、不所望の治療抗体は、ナタリズマブ（Ｔｙｓａｂｒｉ，Ｂｉｏｇｅｎ　Ｉｄｅｃ／Ｅｌａｎ）、エファリズマブ（Ｒａｐｔｉｖａ，Ｇｅｎｅｔｅｃｈ）、ベバシズマブ（Ａｖａｓｔｉｎ，Ｇｅｎｅｎｔｅｃｈ）等の抗ＶＬＡ４抗体、及びエタネルセプト（Ｅｎｂｒｅｌ，Ａｍｇｅｎ／Ｗｙｅｔｈ）等のＦｃ融合タンパク質である。ナタリズマブモノクローナル抗体療法は、進行性多巣性白質脳症（ＰＭＬ）に関連している。血流及び／又は体の他の部分から治療抗体を枯渇させると、ＰＭＬの進行を変化させることができる。

【０２９６】

幾つかの実施形態では、本明細書に提示される治療方法は、対象の血流から治療抗体を除去する又は部分的に除去する方法と組み合わせてもよい。幾つかの実施形態では、本明細書に提示される抗ＦｃＲｎ抗体は、治療抗体に結合することができる捕捉タンパク質と組み合わせてもよく、前記組み合わせにより血流からの治療抗体のクリアランスが増加する。幾つかの実施形態では、対象の血流から治療抗体を除去する又は部分的に除去する方法は、血漿交換（ＰＬＥＸ）である。幾つかの実施形態では、抗ＦｃＲｎ抗体は、血漿交換を受けている対象に投与することができる。幾つかの実施形態では、抗ＦｃＲｎ抗体は、血漿交換プロセスにおけるＦｃＲｎの免疫吸着剤として使用することができる。

【０２９７】

血漿交換（アフェレーシス又はプラスマフェレーシスとも呼ばれる）では、血液を身体から取り出し、コレステロール又は治療抗体等の不所望の剤を含有している血漿を細胞分離機により血液から除去する。血液は、バッチで身体から取り出してもよく、体内に処理した血液を後に再導入することを可能にする連続流モードで取り出してもよい。取り出された不所望の剤を含む血漿を廃棄し、患者は代わりにドナーの血漿又はタンパク質を添加した生理食塩水を受け取ることができる。幾つかの実施形態では、血液から不所望の剤を除去する、又は血液中の不所望の剤の濃度を許容可能な水準まで低下させるために、複数ラウンドの血漿交換を必要とする場合がある。幾つかの実施形態では、血液を「濾過し」、不所望の剤を除去し、その後血液を患者に戻す。血漿交換の方法は当該技術分野で既知であり、例えば米国特許第６，９６０，１７８号に記載されている。

【０２９８】

血漿交換は、対象の血液中の治療抗体の水準を低下させ、ホメオスタシスを回復させることが示されている（例えばＫｈａｔｒｉ　ｅｔ　ａｌ；２００９；Ｎｅｕｒｏｌｏｇｙ　７２：４０２－４０９参照）。

【０２９９】

ＩｇＧに基づく治療抗体（ナタリズマブ等）は、捕捉タンパク質、ブドウ球菌プロテインＡ（ＩｇＧのＦｃ領域に結合し、血流からＩｇＧ抗体を除去する）と血液を接触させることにより、血液、血漿、又は血清から除去することができる。他の捕捉タンパク質は、異なるアイソタイプ抗体に用いることができる。幾つかの実施形態では、抗ＦｃＲｎ抗体は、血漿交換プロセスにおいて捕捉タンパク質として用いることができるため、血流からＦｃＲｎを除去し、それにより「遊離」治療抗体の量を増加させる。得られる「遊離」治療抗体は、治療前に存在する抗体よりも半減期が短い、及び／又は異なる捕捉タンパク質（プロテインＡ等）を用いてより容易に血液から除去することができる。幾つかの実施形態では、抗ＦｃＲｎ抗体は、血漿交換中又は血漿交換前に患者に投与される。幾つかの実施形態では、抗ＦｃＲｎ抗体を固定化し、カラム中で用いて、ＦｃＲｎに結合させることができる。幾つかの実施形態では、治療抗体を含有する患者の血液は、固定化抗ＦｃＲｎ

抗体及び固定化プロテインＡの両方と接触する。

【０３００】

幾つかの実施形態では、本明細書に提示される抗ＦｃＲｎ抗体は、既に投与され、有害な作用を示している治療抗体に対する「救援」療法で用いることができる。幾つかの実施形態では、抗ＦｃＲｎ抗体は、血漿交換の代替として用いることができる。抗ＦｃＲｎの投与は、血管アクセス、クエン酸塩療法、及びドナー血漿の調達等のプラズマフェレーシス及び血漿交換に関連するリスクを負うことなく、治療抗体を枯渇させることができる。

【０３０１】

ヒト白血球抗原

ヒト白血球抗原（ＨＬＡ）は、細胞の外側上にペプチド及び抗原を提示し、これは後にＴ細胞により認識され、Ｔ細胞は次いでＢ細胞を活性化することができる。ＨＬＡ遺伝子のパネルは、各人で独特である。「非自己」であるＨＬＡを提示する任意の細胞は、免疫反応を誘導する。一般に、自己ＨＬＡと「非自己」ＨＬＡが異なるほど、免疫反応は強くなる。例えば、臓器移植の場合、免疫反応を最低限に抑えるためには類似のＨＬＡ遺伝子を有する対象が好ましい。ドナー特異的ＨＬＡ抗体は、腎臓、心臓、及び肝臓移植における移植片不全に関連することが見出されている。

【０３０２】

幾つかの実施形態では、本発明は、個体における「非自己」ＨＬＡの水準を低下させる方法を提供する。「非自己」ＨＬＡ抗体の水準低下は、例えば臓器移植中の免疫反応を抑制することができる。幾つかの実施形態では、臓器移植を受ける予定の人に、抗ＦｃＲｎ抗体を投与する。幾つかの実施形態では、臓器移植を受けている人に抗ＦｃＲｎ抗体を投与する。幾つかの実施形態では、臓器移植を既に受けた人に抗ＦｃＲｎ抗体を投与する。ＨＬＡ抗体の水準を測定するためのアッセイは当該技術分野で周知である。

【０３０３】

診断的使用

ＦｃＲｎに結合し、本明細書に記載される及び/又は本明細書に詳述される方法により同定された抗体は、インビトロ及びインビボの診断的有用性をもつ。

【０３０４】

１つの態様において、本開示は、インビトロで又はインビボで(例えば、対象におけるインビボ画像化)、存在ＦｃＲｎを検出するための診断方法を提供する。方法は、ＦｃＲｎを細胞内の位置、例えばエンドソームに局在させることを含み得る。方法は、（ｉ）試料をＦｃＲｎ結合抗体と接触させ；（ｉｉ）ＦｃＲｎ結合抗体と試料間の複合体の形成を検出することを含み得る。方法はまた、参照試料（例えば、対照試料）を抗体に接触させ、抗体と試料間の複合体の形成の程度を参照試料についての同じものに対して測定する段階を含み得る。対照試料又は対象に関する試料又は対象における複合体の形成における変化、例えば統計学的に有意な変化は、試料におけるＦｃＲｎの存在を示し得る。

【０３０５】

別の代表的な方法は、（ｉ）ＦｃＲｎ結合抗体を対象へ投与し；（ｉｉｉ）ＦｃＲｎ結合抗体と対象の間の複合体の形成を検出することを含み得る。検出は、複合体の形成の位置又は時間を測定することを含み得る。

【０３０６】

ＦｃＲｎ結合抗体は、結合した又は結合していない抗体の検出を容易にするために検出可能な物質で直接的に又は間接的に標識され得る。適した検出可能な物質は、様々な酵素、補欠分子族、蛍光物質、発光物質及び放射活性物質を含む。

【０３０７】

ＦｃＲｎ結合抗体とＦｃＲｎの間の複合体形成は、ＦｃＲｎに結合した抗体又は結合していない抗体のいずれかを測定又は可視化することにより検出され得る。従来の検出アッセイ法、例えば、酵素結合免疫吸着測定法（ＥＬＩＳＡ）、放射性免疫測定法（ＲＩＡ）、又は組織免疫組織化学法が用いられる。ＦｃＲｎ結合抗体を標識することに加えて、ＦｃＲｎの存在は、検出可能な物質で標識された標準及び標識されていないＦｃＲｎ結合抗

体を利用する競合免疫測定法により試料においてアッセイされ得る。このアッセイの１つの例において、生体試料、標識された標準、及びＦｃＲｎ結合抗体は、混合され、非標識抗体に結合した標識標準の量が測定される。試料におけるＦｃＲｎの存在の量は、ＦｃＲｎ結合抗体に結合した標識標準の量に反比例する。

【０３０８】

フルオロフォア及び発色団で標識された抗体を調製することができる。抗体及び他のタンパク質は、約３１０ｎｍまでの波長をもつ光を吸収するため、蛍光部分は、３１０ｎｍより上の、好ましくは４００ｎｍより上の波長において実質的な吸収作用を有するように選択されるべきである。様々な好適な蛍光及び発色団は、Ｓｔｒｙｅｒ，１９６８，Ｓｃｉｅｎｃｅ １６２：５２６及びＢｒａｎｄ，Ｌ．ｅｔ ａｌ．，１９７２，Ａｎｎｕａｌ Ｒｅｖｉｅｗ ｏｆ Ｂｉｏｃｈｅｍ．４１：８４３－８６８により記載されている。抗体は、米国特許第３，９４０，４７５号、第４，２８９，７４７号及び第４，３７６，１１０号に開示されたもののような従来の手順により蛍光発色団で標識され得る。上記の多数の所望の性質を有する蛍光剤の１つの群は、キサンテン染料であり、フルオレセイン及びローダミンを含む。蛍光化合物の別の群は、ナフチルアミンである。一旦フルオロフォア又は発色団で標識されると、抗体は、試料におけるＦｃＲｎの存在又は位置を、例えば蛍光顕微鏡法（共焦点又はデコンヴォルーション顕微鏡法のような）を用いて検出するために用いられ得る。

【０３０９】

組織学的分析。免疫組織化学は、本明細書に記載された抗体を用いて行われ得る。例えば、抗体は、標識（精製タグ又はエピトープタグのような）と共に合成され得る、又は、例えば、標識若しくは標識結合群を共役結合させることにより、検出可能に標識され得る。例えば、キレート化剤が抗体に付着させられ得る。抗体は、その後、組織学的調製物、例えば、顕微鏡スライド上にある組織の固定切片に接触させられる。結合のためのインキュベーション後、調製物は、結合していない抗体を除去するために洗浄される。調製物は、その後、抗体が調製物へ結合したかどうかを確認するために、例えば顕微鏡法を用いて分析される。

【０３１０】

無論抗体は、結合時点において標識されてなくてもよい。結合及び洗浄後、抗体は、それを検出可能にするために標識される。

【０３１１】

タンパク質アレイ。ＦｃＲｎ結合抗体はまた、タンパク質アレイ上に固定化され得る。タンパク質アレイは、例えば、医学的試料（単離された細胞、血液、血清、生検等のような）をスクリーニングするために、診断ツールとして用いられ得る。無論タンパク質アレイはまた、例えば、ＦｃＲｎ又は他の標的分子に結合する、他のリガンドを含んでもよい。

【０３１２】

ポリペプチドアレイを作製する方法は、例えば、Ｄｅ Ｗｉｌｄｔ ｅｔ ａｌ．，２０００，Ｎａｔｕｒｅ Ｂｉｏｔｅｃｈ．１８：９８９－９９４；Ｌｕｅｋｉｎｇ ｅｔ ａｌ．，１９９９，Ａｎａｌ．Ｂｉｏｃｈｅｍ．２７０：１０３－１１１；Ｇｅ，２０００，Ｎｕｃ．Ａｃｉｄｓ Ｒｅｓ．２８：ｅ３；ＭａｃＢｅａｔｈ ａｎｄ Ｓｃｈｒｅｉｂｅｒ，２０００，Ｓｃｉｅｎｃｅ ２８９：１７６０－１７６３；国際公開第０１／４０８０３及び国際公開第９９／５１７７３Ａ１に記載されている。アレイについてのポリペプチドは、例えば、市販されている、例えば、Ｇｅｎｅｔｉｃ ＭｉｃｒｏＳｙｓｔｅｍｓ又はＢｉｏＲｏｂｏｔｉｃｓ社製のロボット装置を用いて、高速度でスポットされ得る。アレイ基材は、例えば、ニトロセルロース、プラスチック、ガラス、例えば、表面修飾ガラス、であり得る。アレイはまた、多孔質マトリックス、例えば、アクリルアミド、アガロース又は別のポリマーを含み得る。

【０３１３】

例えば、アレイは、例えば、Ｄｅ Ｗｉｌｄｔ、上掲に記載されているような、抗体の

アレイであり得る。抗体を産生する細胞は、アレイ形式でのフィルター上で増殖され得る。抗体産生が誘導され、発現されたポリペプチドは、細胞の位置においてフィルターへ固定化される。抗体アレイは、各固定化抗体への標的の結合の程度を測定するために標識された標的と接触させられ得る。アレイの各アドレスにおける結合の程度についての情報は、例えば、コンピュータデータベースにおいて、プロファイルとして保存され得る。抗体アレイは、複製物として作製され、例えば、標的及び非標的の、結合プロファイルを比較するために用いられ得る。

【０３１４】

ＦＡＣＳ（蛍光活性化細胞選別）。ＦｃＲｎ結合抗体を用いて細胞、例えば試料（患者の試料）中の細胞を標識することができる。抗体はまた、蛍光化合物に接着させる（又は接着可能である）。次いで蛍光活性化細胞選別機を用いて（例えばＢｅｃｔｏｎ　Ｄｉｃｋｉｎｓｏｎ　Ｉｍｍｕｎｏｃｙｔｏｍｅｔｒｙ　Ｓｙｓｔｅｍｓ，Ｓａｎ　Ｊｏｓｅ　ＣＡから入手可能な選別機を用いて、米国特許第５，６２７，０３７号；同第５，０３０，００２号；及び同第５，１３７，８０９号も参照）細胞を選別することができる。細胞が選別機を通過すると、レーザービームが蛍光化合物を励起し、検出機が通過する細胞を計数し、蛍光を検出することにより細胞に蛍光化合物が接着しているかどうかを決定する。各細胞に結合している標識の量を定量及び分析して、試料を特徴付けることができる。

【０３１５】

選別機はまた、細胞をそらせ、抗体が結合していない細胞から抗体が結合している細胞を分離することができる。分離された細胞を培養及び／又は特徴付けすることができる。

【０３１６】

インビボ画像化。本発明では、またインビボでＦｃＲｎ発現組織の存在を検出する方法を特徴とする。方法は、（ｉ）検出可能なマーカーに共役結合されている抗ＦｃＲｎ抗体を対象（例えば自己免疫障害に罹患している患者）に投与することと、（ｉｉ）前記対象を、前記検出可能なマーカー、ＦｃＲｎ発現組織又は細胞を検出するための手段に曝露することとを含む。例えば、対象は、例えばＮＭＲ又は他のトモグラフィー的手段により画像化される。

【０３１７】

画像診断法に有用な標識の例は、^{131}Ｉ、^{111}Ｉｎ、^{123}Ｉ、^{99m}Ｔｃ、^{32}Ｐ、^{125}Ｉ、^{3}Ｈ、^{14}Ｃ及び^{188}Ｒｈのような放射標識、フルオレセイン及びローダミンのような蛍光標識、核磁気共鳴活性標識、陽電子放出断層撮影法（「ＰＥＴ」）スキャナーにより検出可能な陽電子放出同位元素、ルシフェリンのような化学発光剤、並びにペルオキシダーゼ又はホスファターゼのような酵素マーカーを含む。短距離検出器探針により検出可能な同位元素のような短距離放射体も用いられ得る。抗体は、既知の技術を用いてそのような試薬で標識され得る。例えば、抗体の放射標識に関する技術についてＷｅｎｓｅｌ　ａｎｄ　Ｍｅａｒｅｓ，１９８３，Ｒａｄｉｏｉｍｍｕｎｏｉｍａｇｉｎｇ　ａｎｄ　Ｒａｄｉｏｉｍｍｕｎｏｔｈｅｒａｐｙ，Ｅｌｓｅｖｉｅｒ，Ｎｅｗ　Ｙｏｒｋ、及びＤ．Ｃｏｌｃｈｅｒ　ｅｔ　ａｌ．，１９８６，Ｍｅｔｈｏｄｓ　Ｅｎｚｙｍｏｌ．１２１：８０２－８１６を参照されたい。

【０３１８】

放射標識抗体もまた、インビトロの診断試験に用いられ得る。同位体標識された抗体の特異的活性は、放射性標識の半減期、同位体純度、及び標識が抗体へどのように取り込まれているかに依存する。

【０３１９】

ポリペプチドを（^{14}Ｃ、^{3}Ｈ、^{35}Ｓ、^{125}Ｉ、^{32}Ｐ、^{131}Ｉのような）放射性同位元素で標識するための手順は、一般的に知られている。例えば、トリチウム標識手順は、米国特許第４，３０２，４３８号に記載されている。例えば、マウスモノクローナル抗体について適応される場合の、ヨウ素化、トリチウム標識、及び^{35}Ｓ標識手順は、例えば、Ｇｏｄｉｎｇ，Ｊ．Ｗ．（Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ　Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ：Ｐｒｉｎｃｉｐｌｅｓ　Ａｎｄ　Ｐｒａｃｔｉｃｅ：　Ｐｒｏｄｕｃｔｉｏｎ　Ａｎｄ　Ａｐ

plication Of Monoclonal Antibodies In Cell Biology, Biochemistry, And Immunology 2nd ed. London, Orlando, Academic Press, 1986, pp124－126）及びそこに引用された参考文献により記載されている。抗体のようなポリペプチドをヨウ素化するための他の手順は、Hunter and Greenwood, 1962, Nature 144：945, David et al., 1974, Biochemistry 13：1014－1021並びに米国特許第3, 867, 517号及び第4, 376, 110号により記載されている。画像化において有用である放射性標識元素は、例えば、^{123}I、^{131}I、^{111}In及び^{99m}Tcを含む。抗体をヨウ素化するための手順は、Greenwood, F. et al., 1963, Biochem. J. 89：114－123；Marchalonis, J., 1969, Biochem. J. 113：299－305；及びMorrison, M. et al., 1971, Immunochemistry 8：289－297により記載されている。^{99m}Tc標識についての手順は、Burchiel, S. et al.（eds.）, Tumor Imaging: The Radioimmunichemical Detection of Cancer, New York：Masson 111－123, 1982におけるRhodes, B. et al. 及びそこに引用されている参考文献により記載されている。^{111}In標識抗体に適した手順は、Hnatowich, D. J. et al., 1983, J. Immun. Methods 65：147－157, Hnatowich, D. et al., 1984, J. Applied Radiation 35：554－557及びBuckley, R. G. et al., 1984, F. E. B. S. Lett. 66：202－204により記載されている。

【0320】

放射標識された抗体の場合、抗体は患者に投与され、抗体が反応する抗原を有する細胞に局在し、例えばγカメラ又は放出断層撮影法を用いる放射性核スキャニングのような既知の技術を用いて、インビボで検出又は「画像化」される。例えばA. R. Bradwell et al.,“Developments in Antibody Imaging”, Monoclonal Antibodies for Cancer Detection and Therapy, R. W. Baldwin et al.,（eds.）, pp65 85（Academic Press 1985）参照。或いはBrookhaven National Laboratoryに設置された指定Pet VIのような陽電子放出水平断層撮影法スキャナが、放射性標識が陽電子を放出する場合（例えば、^{11}C、^{18}F、^{15}O及び^{13}N）に用いられ得る。

【0321】

MRI造影剤。磁気共鳴画像法（MRI）は、生存対象の内部特徴を可視化するためにNMRを用い、予後、診断、治療及び手術に有用である。MRIは、明らかな利点として、放射性トレーサー化合物なしに用いられ得る。幾つかのMRI技術は、欧州特許出願公開第EP－A－0 502 814号に要約されている。一般的に、異なる環境における水陽子の緩和時間定数T1及びT2に関する差が、画像を作成するために用いられる。しかしながら、これらの差は、鮮明な高解像度の画像を提供するには不十分である場合がある。

【0322】

これらの緩和時間定数における差は、造影剤により増強され得る。そのような造影剤の例は、多数の磁気性剤、常磁性剤（主にT1を変化させる）及び強磁性体又は超常磁性体（主にT2応答を変化させる）を含む。キレート（例えば、EDTA、DTPA、及びNTAキレート）は、幾つかの常磁性物質（例えば、Fe^{+3}、Mn^{+2}、Gd^{+3}）を付着する（かつ毒性を低減させる）ために用いられ得る。他の物質は、粒子、例えば、直径が10μm未満～約10nMの形態であってもよい。粒子は、強磁性、反強磁性、又は超常磁性の性質をもち得る。粒子は、例えば、磁性（Fe_3O_4）、γ－Fe_2O_3、フェ

ライト、及び遷移元素の他の磁性無機化合物を含み得る。磁性粒子は、非磁性物質を有する及び有しない、１つ又は複数の磁性結晶を含み得る。非磁性物質は、セファロース、デキストラン、デキストリン、デンプン等のような合成又は天然の重合体を含み得る。

【０３２３】

ＦｃＲｎ結合抗体はまた、ＮＭＲ活性^{19}Ｆ原子、又は複数のかかる原子を含む指示群で標識され得る。それは、（ｉ）自然界に豊富に存在するフッ素原子の実質的全部が^{19}Ｆ同位元素であり、従って、実質的に全部のフッ素含有化合物がＮＭＲ活性であり、（ｉｉ）トリフルオロ無水酢酸のような多くの化学的活性のあるポリフッ素化化合物が比較的安価で市販されており、また（ｉｉｉ）多くのフッ素化化合物が、ヘモグロビン代替として酸素を運ぶために利用される過フッ素化ポリエーテルのような、ヒトでの使用に医学的に許容可能であることが見出されているためである。インキュベートするそのような時間の後、全身ＭＲＩが、Ｐｙｋｅｔｔ，１９８２，Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ Ａｍｅｒｉｃａｎ ２４６：７８－８８により記載されたものの１つのような装置を用いて行われ、ＦｃＲｎを発現している組織に局在し画像化する。

【０３２４】

本開示はまた、ＦｃＲｎに結合する抗体、及び診断的使用、例えば、インビトロで、例えば試料、例えば自己免疫障害に罹患している患者からの生検又は細胞において、又はインビボで、例えば対象を画像化することにより、ＦｃＲｎを検出するためのＦｃＲｎ結合抗体又はその抗原結合断片の使用についての使用説明書を含むキットを特徴とする。キットは、標識又は追加の診断剤のような少なくとも１つの追加の試薬を更に含み得る。インビボの使用のために、抗体は、医薬組成物として製剤化され得る。

【０３２５】

本発明は、以下の実施例により更に例証されるが、これは決して更なる限定として解釈されるべきではない。本願全体を通して引用された参考文献（文献参照、発行済特許、公開済特許出願、及び同時係属特許出願を含む）の全ての全文は、参照することにより、特に、上で参照した教示について本明細書に明示的に組み込まれる。

【実施例】

【０３２６】

実施例１：ＦｃＲｎ、ＦｃＲｎ－ＧＰＩ、及びβ２Ｍのクローニング

これらの実施例に用いる完全長ＦｃＲｎ ｃＤＮＡコンストラクトは、元々プラスミドベクターとしてｐｃＤＮＡ６（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ，Ｃａｒｌｓｂａｄ，ＣＡ）を用いてＳｉｍｉｓｔｅｒ ｌａｂ（Ｂｒａｎｄｅｉｓ Ｕｎｉｖｅｒｓｉｔｙ，Ｗａｌｔｈａｍ ＭＡ）で構築された（ＦｃＲｎ：ｐｃＤＮＡ６）。これらの実施例に用いるヒトβ２ｍ ｃＤＮＡコンストラクトは、元々プラスミドベクターとしてｐｃＤＮＡ３（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ）を用いてＢｌｕｍｂｅｒｇ ｌａｂ（Ｈａｒｖａｒｄ Ｍｅｄｉｃａｌ Ｓｃｈｏｏｌ，Ｂｏｓｔｏｎ，ＭＡ）で構築された（β２Ｍ：ｐｃＤＮＡ３）。

【０３２７】

製造業者の説明書に従って、プラスミドをＯｎｅ Ｓｈｏｔ ＴＯＰ１０化学的コンピテント大腸菌（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ，Ｃａｒｌｓｂａｄ，ＣＡ）にトランスフェクトした。各形質転換プレートから単一コロニーを取り、５００～１０００ｍＬのＬＢ培地に植菌し、振盪機内で一晩培養した。Ｍａｘｉ Ｐｒｅｐ ｋｉｔ（Ｑｉａｇｅｎ，Ｖａｌｅｎｃｉａ，ＣＡ）を用いてこれらの培養物からプラスミドＤＮＡを精製した。ｐｃＤＮＡ６－完全長ｈＦｃＲｎプラスミドコンストラクトをＮｈｅ１及びＸｂａ１で切断した。ｐＣＤＮＡ３．１－β２－Ｍプラスミドコンストラクトを ＨｉｎｄＩＩＩ及びＸｂａＩで切断した。ｐＣＤＮＡ６－ｈＦｃＲｎ－ＧＰＩプラスミドコンストラクトをＮｈｅＩ及びＸｂａＩで切断した。切断産物を１％アガロースゲルで分離し、インサートの大きさが正しいことを検証した。完全長ＦｃＲｎ及びＧＰＩ－ＦｃＲｎの正しい大きさは、長さ約１ｋｂであった。ヒトβ２Ｍは、長さ約０．４ｋｂであった。プラスミドＤＮＡ（エタノール中４ｍｇ／ｍＬ）を、滅菌ＤＰＢＳ（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ，Ｃａｒｌｓｂａｄ，ＣＡ）で２ｍｇ／ｍＬに希釈し、その後筋肉内注射した。

【０３２８】
実施例２：ＦｃＲｎをコードするプラスミドＤＮＡによるマウスの免疫
Ｂａｌｂ／ｃマウスを１００μＬの１０ｍＭ心臓毒（Ｃａｌｂｉｏｃｈｅｍ，Ｓａｎ Ｄｉｅｇｏ）で５日間処理し、その後プラスミドＤＮＡを注入した。心臓毒処理を用いて炎症反応を誘発し、注入した領域に抗原提示細胞（例えば樹状細胞）を動員させ、それによりプラスミドにコードされるタンパク質が発現するときの抗原提示を改善する。
【０３２９】
５０μＬのＰＢＳに再懸濁させた１００μｇの完全長又はＧＰＩ－ｈＦｃＲｎプラスミドコンストラクトをを、マウスの前脛骨筋に注入した。ｈＦｃＲｎ及びβ２Ｍの組み合わせで免疫されたマウスに、２５μＬのＰＢＳ中５０μｇのｈＦｃＲｎプラスミド、及び２５μＬのＰＢＳ中５０μｇのβ２Ｍの用量を投与した。全ての筋肉内注入は、ペントバルビタール（５０ｍｇ／ｋｇ、腹腔内）又はケタミン（１００ｍｇ／ｋｇ）／キシラジン（１０ｍｇ／ｋｇ）による全身麻酔下で実施された。最初の注入で用いたのと同用量及び同体積を用いて、最初の免疫の２１日後及び４２日後にｈＦｃＲｎプラスミドＤＮＡを追加注入して動物を追加免疫した。
【０３３０】
最初の免疫の７６日後、組換えｈＦｃＲｎ（ｓｈＦｃＲｎ、１００μｇ／マウス、腹腔内）の可溶性形態でマウスを追加免疫した。次いで、最初の免疫の５６日後及び９４日後に尾静脈採血により３０～５０μＬの血清を得た。次いで、以下の実施例３に記載のように抗体力価について前記血清を試験した。更に、融合の１２９、１３０、及び１３１日前に、組換えｓｈＦｃＲｎ（５０μｇ／マウス）で１８２番のマウスを静脈内（ＩＶ）追加免疫した。１３２日目、以下の実施例４に記載のように１８２番のマウスの脾細胞をＮＳ－１又はＳＰ２／０骨髄腫細胞（ＡＴＣＣ，Ｍａｎａｓｓａｓ，ＶＡ）と融合させた。約３５種類の抗ヒトＦｃＲｎ特異的ｍＡＢハイブリドーマ株をこの融合体から産生した。
【０３３１】
最初の免疫の２７６、２７７、及び２７８日後に、５０μｇの組換えｓｈＦｃＲｎで１８７番のマウスを更にＩＶ追加免疫した。２７９日目、以下の実施例４に記載のように１８７番の脾細胞をＳＰ２／０骨髄腫細胞と融合させた。得られた融合体の１０％を１１枚の９６ウェルプレートにプレーティングした。残りの９０％の融合体を液体窒素中に保存した。プレーティングした融合体から、３５株のｈＦｃＲｎを認識するｍＡＢを分泌する株が産生された。免疫プロトコルを表２に要約する。

【表２】

表２：免疫プロトコル

接種	マウス番号	5日目	0日目	21日目	42日目	56日目	76日目	94日目	129～131日目、182番	132日目、182番	276～278日目、187番	279日目、187番
ヒトFL-FcRn-DNA	5	心臓毒処理	免疫	追加免疫	追加免疫	1st血清試験	sHFcRnで追加免疫IP	2nd血清試験	shFcRn IVで毎日追加免疫	融合		
ヒトFL-FcRn DNA+ヒトβ2M DNA	5	心臓毒処理	免疫	追加免疫	追加免疫	血清試験	sHFcRnで追加免疫IP	血清試験			shFcRn IVで毎日追加免疫	融合
ヒトGPI-FcRn DNA	5	心臓毒処理	免疫	追加免疫	追加免疫	血清試験	sHFcRnで追加免疫IP	血清試験				
ヒトGPI-FcRn+ヒトβ2M DNA	5	心臓毒処理	免疫	追加免疫	追加免疫	血清試験	sHFcRnで追加免疫IP	血清試験				
DNA無	5	心臓毒処理				血清試験		血清試験				

【０３３２】

実施例３：マウス抗体中の抗体力価

マウス血清中の抗ｈＦｃＲｎ及び抗β２Ｍの力価をＥＬＩＳＡにより測定した。ＥＬＩＳＡプレートを、ＥＬＩＳＡコーティングバッファ（Ｓｉｇｍａ，Ｓｔ．Ｌｏｕｉｓ，ＭＯ）中２μｇ／ｍのＬ可溶性ＦｃＲｎ又はｈβ２Ｍ（Ｓｉｇｍａ，Ｓｔ．Ｌｏｕｉｓ，ＭＯ）でコーティングした。プレートを３７℃で１時間インキュベートした。プレートをＰＢＳ＋０．０５％Ｔｗｅｅｎ（ＰＢＳＴ）で２回洗浄した。プレートを、３７℃で１時間ＰＢＳ中の１％アイシングラスでブロッキングした。プレートをＰＢＳＴで２回洗浄した。（ＰＢＳで）段階希釈したマウス血清を添加し（１００μＬ／ウェル）、３７℃で２時間インキュベートした。プレートをＰＢＳＴで５回洗浄した。１～１０，０００倍希釈したヤギ抗マウスＩｇＧ－ＨＲＰ（Ｐｉｅｒｃｅ，Ｒｏｃｋｆｏｒｄ，ＩＬ）をプレートに添加し、室温で１時間インキュベートした。プレートをＰＢＳＴで５回洗浄した。着色のためにテトラメチルベンジジン（ＴＭＢ）溶液（ＫＰＬ，Ｇａｉｔｈｅｒｓｂｕｒｇ，ＭＤ）をプレートに添加した。適切に発色した約５分後基質反応を停止させた。プレートをマイクロプレートリーダー（Ｂｉｏ－ｒａｄ，Ｈｅｒｃｕｌｅｓ，ＣＡ）により４５０ｎＭで読み取った。５６日目に全てのマウスの血清を試験した（図１）。ｈＦｃＲｎと反応する血清を有するマウスを９４日目に再度試験し、血清力価を図２に示す。

【０３３３】

実施例４：ハイブリドーマ融合

ハイブリドーマ融合体を作製するために１８２番のマウス及び１８７番のマウスを選択した。両マウスの脾臓を切除し、脾臓の一部を掻き裂き、続いて１０ｍＬのＤＭＥＭ培地

（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ，Ｃａｒｌｓｂａｄ，ＣＡ）を用いてピペッティングを繰り返すことにより、脾細胞の単一細胞懸濁液を調製した。脾細胞を５００ｇで５分間遠心分離した。２ｍＬ　ＡＣＫ溶解バッファ（８．２９ｇ　NH_4Cl、１ｇ　$KHCO_3$、３７．２ｍｇ　Na_2EDTA、最終体積１リットルになるようにH_2O、ｐＨ７．２～７．４）に脾細胞を再懸濁させることにより赤血球を溶解させた。細胞を細胞を５分間インキュベートした。ＡＣＫバッファで処理した細胞をＤＭＥＭで３回洗浄した。１８２番のマウスから得られた脾細胞の総数は２１６×１０^{6}個であった。細胞の半数を７０×１０^{6}個のＳＰ２／０骨髄腫細胞と融合させ、もう半数を２７×１０^{6}個のＮＳ－１細胞と融合させた。

【０３３４】

１８２番の融合は、Ｃｕｒｒｅｎｔ　Ｐｒｏｔｏｃｏｌ　ｏｆ　Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ　Ｕｎｉｔ　２．５，Ｗａｙｎｅ　Ｍ．Ｙｏｋｏｙａｍａ，Ｐｕｂｌｉｓｈｅｒ：　Ｊｏｈｎ　Ｗｉｌｅｙ　ａｎｄ　Ｓｏｎ　Ｉｎｃ．の電子版に記載されている方法に従って実施した。ＳＰ２／０と融合した細胞は、３１４ｍＬのＨＡＴ培地で希釈し、１６．５プレート（９６ウェルプレート、０．２ｍＬ／ウェル）に播種した。ＮＳ－１と融合した細胞は、２１６ｍＬのＨＡＴ培地で希釈し、１１プレート（９６ウェルプレート、０．２ｍＬ／ウェル）に播種した。

【０３３５】

１８７番の融合では、２×１０^{8}個の脾細胞を、“Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ　Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ”ｅｄｉｔｅｄ　ｂｙ　Ｊ．Ｈ．Ｐｅｔｅｒｓ　ａｎｄ　Ｈ．Ｂａｕｍｇａｒｔｅｎ，ｐｕｂｌｉｓｈｅｄ　ｂｙ　Ｓｐｒｉｎｇｅｒ－Ｖｅｒｌａｇ，１９９２，Ｐａｇｅ　１４９－１５６．Ｎｅｗ　Ｙｏｒｋのプロトコルを用いて８×１０^{7}個のＳＰ２／０骨髄腫細胞と融合させた。

【０３３６】

融合の２、３、４、５、７、９日後、ＨＡＴ培地の半分を新たなＨＡＴ培地に置換した。融合の１～２週間後、陽性ウェル（顕微鏡下及び肉眼検査による明らかな増殖により決定された）由来のハイブリドーマ細胞を２４ウェル培養プレートに移した。融合後２週間以内に、ハイブリドーマ細胞を、完全培地を含有しているＨＡＴ培地中で培養した。１６日目に、細胞をＨＡＴを含まないＣＤＭＥＭに移した。

【０３３７】

培地が僅かに黄色に変化したら、上清のアリコートを回収し、実施例３に記載されたようにＥＬＩＳＡにより抗ｈＦｃＲｎ活性についてスクリーニングした。ＳＰ２／０－１８２番脾細胞融合体から合計３８４株のハイブリドーマ株をスクリーニングした。ＮＳ－１－１８２番脾細胞融合体から合計６０株のハイブリドーマ株をスクリーニングした。ＳＰ２／０融合体のうち３１株の上清は、ＥＬＩＳＡにより抗ｈＦｃＲｎ反応性が陽性であると判定された。ＮＳ－１融合体のうち８株の上清は、ＥＬＩＳＡにより抗ｈＦｃＲｎ反応性が陽性であると判定された。１８２番の融合体のうち合計１６株のハイブリドーマ株を限界希釈によりクローニングし、各株から３個のサブクローンを更なる特徴付けのために選択した。

【０３３８】

実施例５：ハイブリドーマクローニング

ハイブリドーマクローニング培地を以下のように調製した。１２．５ｍＬのｈｅｐｅｓバッファ溶液（１００×／１Ｍ）（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ，Ｃａｒｌｓｂａｄ，ＣＡ）、５ｍｌのピルビン酸ナトリウム（１００×／１００ｍＭ）（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ，Ｃａｒｌｓｂａｄ，ＣＡ）、５ｍｌのペニシリン／ストレプトマイシン（１００×／１０，０００ｕｎｉｔｓ）（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ，Ｃａｒｌｓｂａｄ，ＣＡ）、５ｍｌの非必須アミノ酸（１００×／１００ｍＭ）（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ，Ｃａｒｌｓｂａｄ，ＣＡ）、５ｍｌのＬ－グルタミン（１００×／２００ｍＭ）（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ，Ｃａｒｌｓｂａｄ，ＣＡ）、０．５ｍｌの２－メルカプトエタノール（１０００×／５．５×１０－２Ｍ）（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ，Ｃａｒｌｓｂａｄ，ＣＡ）、１００ｍｌ　ＦＢＳ（ハ

イブリドーマ増殖について予めスクリーニング）（Ｃａｍｂｒｅｘ，Ｅａｓｔ　Ｒｕｔｈｅｒｆｏｒｄ，ＮＪ）、及び５０ｍｌのハイブリドーマクローニング因子（ＩＣＮ，Ｉｒｖｉｎｅ，ＣＡ）を、３１７ｍＬの高グルコースＤＭＥＭ（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ，Ｃａｒｌｓｂａｄ，ＣＡ）に添加した。培地を０．２２μｍのフィルタを通して濾過し、４℃で保存した。

【０３３９】

クローニングの２日前、ｃＤＭＥＭ培養培地をハイブリドーマクローニング培地に置換した。クローニングの日、細胞をＤＭＥＭで１回洗浄し、細胞を計数した。細胞を、1×10^{5}～1×10^{6}／ｍＬの濃度でクローニング培地に再懸濁させた。３０００、３００、又は１００個の細胞を２０ｍＬのクローニング培地に移し、１５０細胞／ｍＬ、１５細胞／ｍＬ、又は３細胞／ｍＬの濃度にした。次いで細胞を９６ウェルプレートの３枚の個別のプレートに移した（各細胞濃度につき１枚）。各ウェルは最終体積０．２ｍＬであった。プレートを３７℃、１０％CO_2で１～２週間インキュベートし、その時点での陽性ウェルを計数した。２０～３０クローンを最小陽性ウェルのプレートから選択し、２４ウェルプレートに広げた。可溶性ＦｃＲｎの反応性について、実施例３に記載されたように抗ＦｃＲｎＥＬＩＳＡにより上清を試験した。

【０３４０】

実施例６：ＦｃＲｎ特異的ｍＡＢ上清を用いる細胞競合アッセイ

Ａ．Ａｌｅｘａ－Ｆｌｕｏｒ－４８８によるＳｙｎａｇｉｓ（登録商標）の標識

Ｓｙｎａｇｉｓ（登録商標）（ヒト化ＩｇＧ１、ＭｅｄＩｍｍｕｎｅ，Ｇａｉｔｈｅｒｓｂｕｒｇ，ＭＤ）を、製造業者の提唱するプロトコルに従ってＡｌｅｘａ　Ｆｌｕｏｒ　４８８　Ｐｒｏｔｅｉｎ　Ｌａｂｅｌｉｎｇ　Ｋｉｔ（Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｐｒｏｂｅｓ／Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ，Ｃａｒｌｓｂａｄ，ＣＡ）を用いて標識した。簡潔に述べると、５０μＬの１Ｍ重炭酸ナトリウム溶液（ｐＨ９．０）を、ＩｇＧの２ｍｇ／ｍＬＰＢＳ溶液５００μＬに添加した。次いでこのタンパク質溶液を、Ａｌｅｘａ　Ｆｌｕｏｒ　４８８スクシンイミジルエステル（乾燥粉末）に添加し、室温で１時間インキュベートした。キットコンポーネントカラム（Ｂｉｏ－Ｒａｄ　ＢｉｏＧｅｌ　Ｐ－３０　Ｆｉｎｅサイズ排除精製樹脂）を用いてサイズ排除クロマトグラフィーによりタンパク質を精製した。試料をカラムに充填し、ＰＢＳで溶出した。最初の着色バンドは標識タンパク質を含有していた。標識の程度は、Ａ２８０及びＡ４９４で溶出されたＩｇＧの吸光度を測定することにより決定された。タンパク質のモル濃度は、以下の式を用いて決定された。

$$(M)=\frac{[A_{280}-(A_{494}\times0.11)\times\text{希釈係数}]}{203,000}$$

更に、タンパク質１モル当たりの色素のモル数を導くために以下の式を用いた。

$$(M)=\frac{A_{494}\times\text{希釈係数}}{71,000\times\text{タンパク質濃度}}$$

典型的には、ＩｇＧ１モル当たり４～７モルのＡｌｅｘａ－Ｆｌｕｏｒ　４８８が組み込まれた。

【０３４１】

Ｂ．ＦｃＲｎ特異的上清を用いた細胞競合アッセイ

ｈＦｃＲｎ及びヒトβ２Ｍを発現する２９３　Ｃ１１細胞を用いて、蛍光標識ＩｇＧ１を用いる競合アッセイにおいてＦｃＲｎ　ｍＡＢ上清を試験した。３００，０００個の２９３　Ｃ１１細胞をＰＢＳで洗浄し、２５０００ＲＰＭで５分間卓上型微量遠心機内にてペレット化させた。ペレット化した細胞を、ＦｃＲｎ特異的ｍＡＢを産生するクローン由来の上清１００～２００μＬに再懸濁させ、６０～９０分間氷上でインキュベートした。細胞を結合バッファ（ＰＢＳ　ｐＨ６．０　１０ｍＭ　ＥＤＴＡ）で２回洗浄した。細胞を１００μＬの結合バッファに再懸濁させた。Ａｌｅｘａ　ｆｌｕｏｒ　４８８（Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｐｒｏｂｅｓ，Ｅｕｇｅｎｅ，ＯＲ）で標識されたｈＩｇＧ１を、製造業者の説明書に従ってキット（Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｐｒｏｂｅｓ，Ｅｕｇｅｎｅ，ＯＲ）を用いて調製し、各チューブ（０．６～１．５μＬ中１００ｎＭ）に添加した。細胞を４

０分間氷上でインキュベートした。細胞を結合バッファで１回洗浄し、ＥＸＰＯ．３２ソフトウェア（Ｂｅｃｋｍａｎ　Ｃｏｕｌｔｅｒ，Ｉｎｃ．，Ｍｉａｍｉ，ＦＬ）を用いて蛍光活性化細胞選別（ＦＡＣＳ）により分析した。結果は、合計平均蛍光強度（ＴＭＦＩ）として表した。

【０３４２】

図３は、１８２個の融合体の結果を示す。対照チューブ（Ａｌｅｘａ　Ｆｌｕｏｒ　４８８のみ、競合物質無）のＴＭＦＩが競合物質（ｍＡＢ上清）を含むチューブのＴＭＦＩよりも高い場合、阻害量を以下のように算出した。

対照チューブのＴＭＦＩ－競合物質を含むチューブのＴＭＦＩ／対照チューブのＴＭＦＩ

【０３４３】

対照チューブのＴＭＦＩが競合物質を含むチューブのＴＭＦＩよりも低い場合、ｈＩｇＧ１のＦｃＲｎ発現細胞に対する結合が増強されている。増強は、以下のように算出した。

競合物質を含むチューブのＴＭＦＩ－対照チューブのＴＭＦＩ／対照チューブのＴＭＦＩ

【０３４４】

図４は、１８７個の融合体の結果を示す。ＴＭＦＩは、ゲート領域（ｇａｔｅｄ　ｒｅｇｉｏｎ）内の細胞の割合に領域内の平均蛍光を乗じて算出された。ある実験結果は、試験した上清のうち１１個がＡｌｅｘａ　ｆｌｕｏｒ　１８８で標識されたＩｇＧ１の２９３Ｃ１１細胞への結合を阻害し、一方上清のうち４個がＡｌｅｘａ　ｆｌｕｏｒ　１８８で標識されたＩｇＧの２９３Ｃ１１への結合を促進することを示した（図４Ａ）。第２の実験結果は、３個の上清がＩｇＧ１の２９３Ｃ１１細胞への結合を阻害し、５個の上清が結合を促進することを示した（図４Ｂ）。

【０３４５】

実施例７：精製ＦｃＲｎ特異的ｍＡＢを用いる細胞競合アッセイ

ｈＦｃＲｎ及びヒトβ２Ｍを発現する２９３　Ｃ１１細胞を用いて、蛍光標識ＩｇＧ１を用いる競合アッセイにおいてＦｃＲｎ　ｍＡＢ上清を試験した。細胞を結合バッファ（ＰＢＳ　ｐＨ６．０，１０ｍＭ　ＥＤＴＡ）で１回洗浄し、１８０００ＲＰＭ、４℃にて卓上型遠心機内でペレット化させた。細胞を微量遠心管（１～３×10^5／バイアル／ｍＬ結合バッファ）に分注した。細胞を２５０００ＲＰＭで５分間微量遠心機内でペレット化させた。上清を吸引し、細胞ペレットを１００μＬの結合バッファに再懸濁させた。精製ＦｃＲｎ特異的ｍＡＢを種々の濃度で添加した。Ａｌｅｘａ　ｆｌｕｏｒ　４８８（Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｐｒｏｂｅｓ，Ｅｕｇｅｎｅ，ＯＲ）で標識したＩｇＧを、１００ｎＭの濃度（最終濃度）で各管に添加した。試料を４℃で４０分間インキュベートした。試料を結合バッファで１回洗浄し、ＦＡＣＳ分析（Ｂｅｃｋｍａｎ　Ｃｏｕｌｔｅｒ，Ｉｎｃ．，Ｍｉａｍｉ，ＦＬ）用に結合バッファに再懸濁させた。試料を分析する前に、ＦＡＣＳを結合バッファで平衡化した。結果は、合計平均蛍光強度（ＴＭＦＩ）として表す。ＴＭＦＩは、ゲート領域内の細胞の百分率×該領域内の平均蛍光として算出された。結果は、ｍＡＢ３Ｂ３．１１、ｍＡＢ４Ｂ４．１２、ｍＡＢ３１．１、及びｍＡＢ４．１３がＩｇＧ１の２９３　Ｃ１１細胞への結合を著しく阻害することを示した（図５）。

【０３４６】

実施例８：モノクローナル抗体を用いるＦｃＲｎの細胞表面染色

ｍＡＢを用いたＦｃＲｎの表面発現をＦＡＣＳにより検出した。ラットの線維芽細胞（ラットＦｃＲｎ／ラットβ２Ｍを発現）、２９３　Ｃ１１細胞（ｈＦｃＲｎ／ヒトβ２Ｍを発現）、３Ｔ３　ＦｃＲｎ細胞（マウスＦｃＲｎ／マウスβ２Ｍを発現）及びサルＦｃＲｎ／β２ＭをコードするプラスミドｐＣＤＮＡ６をトランスフェクトしたＣＯＳ細胞について研究した。微量遠心機を用いて、１～３×10^5個の各細胞種をペレット化させた。上清を除去し、最終体積１００μＬのＰＢＳ／１％ウシ血清アルブミン（ｐＨ７．４）中のＡｌｅｘａ　４８８（Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｐｒｏｂｅｓ，Ｅｕｇｅｎｅ，ＯＲ）で

標識された１μｇのｍＡＢに細胞を再懸濁させた。ＦｃＲｎに対して特異的な精製ｍＡＢは、製造業者の説明書に従ってＡｌｅｘａ　Ｆｌｕｏｒ　Ｐｒｏｔｅｉｎ　Ｌａｂｅｌｉｎｇ　Ｋｉｔ（Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｐｒｏｂｅｓ，Ｅｕｇｅｎｅ，ＯＲ）を用いてＡｌｅｘａ　Ｆｌｕｏｒ　４８８（Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｐｒｏｂｅｓ，Ｅｕｇｅｎｅ，ＯＲ）で既に標識されていた。細胞を氷上で４５分間インキュベートし、次いでＰＢＳ／１％ウシ血清アルブミン（ｐＨ７．２）で１回洗浄した。Ｂｅｃｋｍａｎ　Ｃｏｕｌｔｅｒ，Ｉｎｃ．ＦＡＣＳ（Ｂｅｃｋｍａｎ　Ｃｏｕｌｔｅｒ，Ｉｎｃ．，Ｍｉａｍｉ　ＦＬ）を用いてＦＡＣＳ分析を実施した。結果を図６、７、及び８に示す。図６は、ｍＡＢ３Ｂ３．１１、３１．１、４．１３、４Ｂ．１２、及び１５Ｂ６．１が全て、２９３Ｃ１１細胞の細胞表面上で発現するｈＦｃＲｎを認識することを示す。図７は、ｍＡＢｓ４．１３及び４Ｂ４．１２が、ラットＦｃＲｎを発現する細胞上で発現するラットＦｃＲｎも認識し、一方ｍＡＢ３Ｂ３．１１、及び３１．１はラットＦｃＲｎと交差反応しないことを示す。図８は、ｍＡＢ３Ｂ３．１１、４Ｂ４．１２、及び４．１３がマウス３Ｔ３細胞の細胞表面上で発現するマウスＦｃＲｎを認識し、一方１５Ｂ６．１、及び３１．１は交差反応しないことを示す。

【０３４７】

実施例９：種々のハイブリドーマ細胞株のサブクローニング

１８７番のマウスのハイブリドーマをサブクローニングのために選択した。ハイブリドーマ６Ａ４，６Ａ１、５Ａ４，７Ｄ２、４Ｂ４、３Ｃ５、３Ｂ３、１０Ｂ４、１Ｃ１、及び１１Ａ５をサブクローニングのために選択した。サブクローニングは、限界希釈により実施した。３Ｂ５クローンは抗ｈβ２Ｍを分泌する。２０～３０個のサブクローンを増殖させ、培養物の上清を実施例３に記載されたようにＥＬＩＳＡにより試験した。２～１０個の陽性クローンの培養物をＴ１５０フラスコに拡大した（１クローン当たり４つのフラスコ）。合計３５０～４００ｍＬの上清をｍＡＢ精製のために回収した。各クローンから３～２０ｍｇの範囲のｍＡＢが得られた。精製ｍＡＢを、実施例７に記載されたように２９３Ｃ１１細胞の競合アッセイを用いてＦｃＲｎブロッキングについて試験した。ｍＡＢは、競合アッセイで１０００ｎＭから１６ｎＭに２倍に滴定された。１８７番のサブクローン及び１８２番のクローン空得られた結果の要約を表３に示す。

【表３】

表３：１８２番の融合体及び１８７番の融合体由来のｍＡＢの特徴付け

クローン	ELISA（shFcRn)	ブロッキング試験（上清)(阻害％)	IgG アイソタイプ	ブロッキング(精製)(阻害％)
182 番の融合体				
4.13	**+**	**>50**	**IgG1**	**90**
15B6.1	++	>50	IgG2a	
14C5.3	+	>40	IgG2a	
31.1	**+**	**>40**	**IgG1**	**93**
3C6.2	+	>35	IgG2a	74
187 番の融合体				
3B3.11	**++**	**>60**	**IgG1**	**92**
3B3.16	++	>60	IgG1	73
3B3.21	++++	>60	IgG1	84
3B3.35	++	>60	IgG1	86
6A4.1	+	>40	IgG1	42
6A4.4	+	>40	IgG1	52
6A4.16	+	>40	IgG1	65
6A4.17	+	>40	IgG1	42
6A1.12	+	21	IgG1 IgG2a	35
6A1.13	+	25	IgG2a	39
6A1.29	+	33	IgG2a	81
3B5.2（@β2m)	+++	71	IgG2a	90
3B5.4(@β2m)	+++	79	IgG2a	52
3B5.5(@β2m)	+++	63	IgG2a	
3B5.9(@β2m)	+++	71	IgG2a	80
7D2.13	+	49	IgG1 IgG2a	11
7D2.21	++	43		

7D2.22	+	49	IgG1 IgG2a	43
7D2.27	+	46	IgG1	52
5A4.9	+	57		
5A4.10	+	49	IgG1	63
5A4.25	+	54	IgG1	31
5A4.27	+	51		39
5A4.38	+	43		15
5A4.39	+	49		20
5A4.40	+	53		30
5A4.41	+	66		35
5A4.42	+	72		
4B4.1	++	70	IgG2a	
4B4.2	++	66	IgG2a	69
4B4.12	**++**	**70**	**IgG2a**	**71**
4B4.13	++	66	IgG2a	60
3C5.10	+	30		
3C5.11	+	40		
3C5.14	+	40		
3C5.16	+	33		
10B4.5	+++	23		54
10B4.9	++	23		31
1C1.7	+++	32	IgG1	23
1C1.22	+++	27	IgG1	61
1C1.23	+++	32	IgG1	27
1C1.25	++	32	IgG1	38
11A5.5	+++	49	IgG1	13
11A5.9	+	43		
11A5.11	+	45		
11A5.12	+	51	IgG1/IgG2a	76

【０３４８】

実施例１０：ＦｃＲｎの細胞内染色

ＴＨＰ－１細胞（ヒト単球細胞株）及びＣａｃｏ－２細胞（ヒト腸上皮細胞株）を、ＦｃＲｎに特異的な精製モノクローナル抗体（ｍＡＢ）を用いてＦｃＲｎの細胞内染色について研究した。ＴＨＰ－１細胞又はＣａｃｏ－２細胞の３００，０００細胞／チューブのアリコートをペレット化させ、２５０μＬのＢＤ　Ｃｙｔｏｆｉｘ／Ｃｙｔｏｐｅｒｍ（ＢＤ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ　Ｐｈａｒｍｉｎｇｅｎ，Ｓａｎ　Ｄｉｅｇｏ，ＣＡ）に再懸濁させた。細胞を１ｍＬのＢＤ　Ｐｅｒｍ／洗浄溶液（ＢＤ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ　Ｐｈａｒｍｉｎｇｅｎ，Ｓａｎ　Ｄｉｅｇｏ，ＣＡ）で２回洗浄し、同溶液に再懸濁

させた。Ａｌｅｘａ ｆｌｕｏｒ４８８（Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｐｒｏｂｅｓ，Ｅｕｇｅｎｅ，ＯＲ）で標識されたｍＡＢ（１μｇ／チューブ）を細胞に添加し、細胞を４５分間氷上でインキュベートした。細胞をＢＤ Ｐｅｒｍ／洗浄溶液（ＢＤ Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ Ｐｈａｒｍｉｎｇｅｎ，Ｓａｎ Ｄｉｅｇｏ，ＣＡ）で２回洗浄し、ＰＢＳ／１％ウシ血清アルブミンに再懸濁させた。細胞をＦＡＣＳ（Ｂｅｃｋｍａｎ Ｃｏｕｌｔｅｒ，Ｉｎｃ．，Ｍｉａｍｉ ＦＬ）により分析した。結果を図９及び図１０に示し、この結果はｍＡＢ３Ｂ３．１１、３１．１、４Ｂ４．１２、及び１５Ｂ６．１が全てＴＨＰ－１細胞内の細胞内ＦｃＲｎに効率よく結合し（図９）、一方４．１３ｍＡＢはそうではないことを示す。同様の結果がＣａｃｏ－２でも得られた（図１０）。

【０３４９】

実施例１１：マウス脾細胞の抗ＦｃＲｎｍＡＢによる細胞内及び表面染色

鉗子を用いて、マウスの脾臓から細胞を分離した。細胞をペレット化させ、ＡＣＫ溶解バッファ（８．２９ｇ NH_4Cl、１ｇ $KHCO_3$、３７．２ｍｇ Na_2EDTA、最終体積が１ＬになるまでH_2O、ｐＨ７．２～７．４）に再懸濁させ、室温で５分間インキュベートした。細胞をＤＭＥＭ／５％ＦＢＳ（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ，Ｃａｒｌｓｂａｄ，ＣＡ）で３回洗浄した。1×10^6個の細胞を微量遠心管に移し、卓上型微量遠心機内でペレット化させた。細胞内染色のために、実施例１０に記載されたように固定及び透過処理工程を実施した。細胞を２０μｇ／ｍＬのマウスアイソタイプ対照抗体を含有する洗浄バッファ（ＰＢＳ／１％ ＢＳＡ）に再懸濁させ、氷上で２０分間インキュベートした。細胞をペレット化させ、１μｇ／ｍＬのアイソタイプ対照抗体を含有する１００μＬの洗浄バッファ中のＡｌｅｘａ４８８（Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｐｒｏｂｅｓ，Ｅｕｇｅｎｅ，ＯＲ）で標識されたｍＡＢ（１μｇ／管）を細胞に添加した。細胞を氷上で４０分間インキュベートし、次いで洗浄バッファで２回洗浄した。ＥＸＰＯ．３２ソフトウェアを用いて、マクロファージ／単球を多く含む集団として散乱をゲートした。。前方散乱及びサイズ散乱を調整することにより、マクロファージ／単球（サイズが大きく粒度が高い独特な集団）を多く含む集団を分析した。細胞をＦＡＣＳ（Ｂｅｃｋｍａｎ Ｃｏｕｌｔｅｒ，Ｉｎｃ．，Ｍｉａｍｉ ＦＬ）により分析した。結果を図１１に示し、この結果はｍＡＢ４Ｂ４．１２が、脾細胞と脾細胞集団から得られたマクロファージ／単球との両方において表面上及び細胞内のマウスＦｃＲｎを検出したことを示す。

【０３５０】

実施例１２：免疫反応に対する抗ＦｃＲｎ ｍＡＢ４Ｂ４．１２の効果

６～８週齢の雌のＢａｌｂ／ｃマウスを、オボアルブミンと１：１で混合したフロイント完全アジュバントのエマルション５０μＬで免疫した。マウスは、０日目に横腹の各側に１回皮下免疫し、１０日目に１００μｇのオボアルブミン／マウスで追加免疫した。ＦｃＲｎ特異的４Ｂ４．１２ｍＡＢ、又はアイソタイプ対照（１８１３；ＡＴＣＣ１８１３）抗体（ＰＢＳ中１ｍｇ／ｍＬ／マウス）、又はＰＢＳのいずれかを腹腔内注入することにより、マウスを処理した。－１日目、０日目柄、１日目、及びその後隔日、処理物を投与した。マウスを９日目に採血して血清試料を採取し、１６日目に安楽死させた。安楽死後に最も多く血清が採取された。プロトコルを以下の表４に要約する。

【表４】

表４：処理プロトコル

群番号	処理							
	-1 日目	0日目		+1 日目	隔日	+9 日目	+10 日目	+16 日目
		IP	SC					
1	4B4.12	4B4.12	OVA+CFA	4B4.12	4B4.12	採血	OVA	アッセイ
2	1813	1813	OVA+CFA	1813	1813	採血	OVA	アッセイ
3	PBS	PBS	OVA+CFA	PBS	PBS	採血	OVA	アッセイ

【０３５１】

脾臓及び流入領域リンパ節を得、化学天秤で計量した。結果を図１２に示し、この結果

は脾臓及び流入領域（鼠径部）リンパ節の重量が、２匹の対照と比べて４Ｂ４．１２ｍＡＢで処理したマウスでは減少したことを示す。

【０３５２】

オボアルブミン抗体力価をＥＬＩＳＡにより測定した。１０μｇ／ｍＬの濃度のオボアルブミンでＥＬＩＳＡプレートをコーティングし、ＰＢＳ／１％ＢＳＡでブロッキングした。漸増血清（１から始めて５０まで２μｇ／ｍＬをＰＢＳ／１％ＢＳＡで２倍ずつ希釈）及び標準的マウスＩｇＧ１（マウスｍＡＢ抗ＯＶＡ）をプレートに添加し、３７℃で２時間インキュベートした。ヤギ抗マウスＩｇＧ　ＨＲＰ（Ｐｉｅｒｃｅ，Ｒｏｃｋｆｏｒｄ，ＩＬ）を添加し、プレートを３０分間インキュベートした。ＴＭＢ溶液（ＫＰＬ，Ｇａｉｔｈｅｒｓｂｕｒｇ，ＭＤ）を添加し、発色させた。マイクロプレートリーダー（Ｂｉｏ－ｒａｄ，Ｈｅｒｃｕｌｅｓ，ＣＡ）を用いて４５０ｎＭで光学濃度を測定した。結果を図１３に示し、これは４ｂ４．１２ｍＡＢが抗オボアルブミン血清濃度を著しく低下させたことを示す。

【０３５３】

実施例１３：ＣＤ１マウスにおけるシナジス（Ｓｙｎａｇｉｓ）の異化作用に対する４Ｂ４．１２の効果

ＣＤ１マウス（ｎ＝４）（Ｃｈａｒｌｅｓ　Ｒｉｖｅｒ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ）にシナジス　１ｍｇ／ｋｇを腹腔内注入した。７２時間後、４Ｂ４．１２、ＭＩｇＧ１又はＰＢＳを腹腔内注入した（２０ｍｇ／ｋｇ）。４、６、及び１０日後、マウス血清を得、シナジス濃度をＥＬＩＳＡにより測定した。３７℃で１時間、ＥＬＩＳＡコーティングバッファ（Ｓｉｇｍａ）中１０μｇ／ｍＬの濃度の抗ヒトＩｇＧ（ＦＡＢ’）２抗体でＥＬＩＳＡプレートをコーティングした。ＰＢＳＴで２回洗浄した後、３７℃で１時間プレートをＰＢＳ／２％　ＢＳＡでブロッキングした。２回洗浄した後、血清試料を１から始めて５０まで２倍ずつ希釈し、２重でプレートに添加した（１００μＬ／ウェル）。プレートを３７℃で２時間インキュベートした。ＰＢＳＴで３回洗浄した後、ヤギ抗ヒトＩｇＧ　ＦｃのＨＲＰコンジュゲートをプレートに添加し、４０分間室温でインキュベートした。ＰＢＳＴで４回洗浄した後、ＴＭＢ基質（ＫＰＬ）をプレートに添加し、室温で５分間インキュベートした。停止溶液（ＫＰＬ）で呈色反応を停止させ、プレートをマイクロプレートリーダー（Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｄｅｖｉｃｅｓ）で読み取った。

【０３５４】

４日目の結果を図１４に示し、これは４Ｂ４．１２ｍＡＢが、対照抗体ＭＩｇＧ２ａ又はＰＢＳに比べてシナジスの異化作用を増加させることを示す。３処理群における１０日間にわたるシナジスの濃度を図１５に示し、これはｍＡｂ４Ｂ４．１２がＭＩｇＧ２ａ又はＰＢＳと比べたとき４日目～１０日目に一貫して異化作用を増加させたことを示す。

【０３５５】

実施例１４：自己免疫疾患のラットモデルにおけるｍＡＢ４Ｂ４．１２の治療効果

実験的自己免疫疾患、重症筋無力症（ＥＡＭＧ）は、抗ＡｃｈＲ　ｍＡＢ３５の受動伝達によりラットにおいて誘導され得る（Ｓｏｃｒａｔｅｓ　ｅｔ　ａｌ．Ｊｏｕｒｎａｌ　ｏｆ　Ｎｅｕｒｏｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ．１５：１８５－１９４，１９８７，）。ラットＦｃＲｎと交差反応するモノクローナル抗体４Ｂ４．１２を、ＥＡＭＧラットモデルにおける疾患状態に影響を及ぼす能力について評価した。

【０３５６】

４～５週齢の雌ルイス（Ｌｅｗｉｓ）ラット（７５～１００ｇ）を用いた。ラットには明らかな耳標を付けた。疾患誘導の２４時間前、疾患誘導の日、及び疾患誘導の２４時間後に、モノクローナル抗体を２４時間腹腔内投与した。疾患誘導の日、ＦｃＲｎブロッキング又は対照ｍＡＢを最初に腹腔内投与し、続いて２時間後にｍＡＢ３５を腹腔内投与した。注入体積は１ｍＬであった。３群（６ラット／群）のラットを用いた。実験群１はｍＡＢ４Ｂ４．１２で処理し、群２は１８１３（対照ｍＡＢ）で処理し、群３はＰＢＳで処理した。疾患誘導の４８時間後、ｍＡＢ３５及びマウスｍＡＢの測定のために１００ｍＬの血清を各ラットから得た。プロトコルを表５に要約する。

【表５】

表5: 処理プロトコル

群番号	処理			試料
	-1日目	0日目	+1日目	+2日目
1	4B4.12 40mg/kg IP ロット2－4.98mg/ml	4B4.12 IP 次いで（2時間後）mAB35 IP	4B4.12 40mg/kg IP	血清採取
2	1813 40mg/kg IP ロット2－4.67mg/ml	1813 IP 次いで（2時間後）mAB35 IP	1813 40mg/kg IP	血清採取
5	PBS	PBS 次いで（2時間後）mAB35 IP	PBS	血清採取

【０３５７】

疾患誘導の１２時間後、１日２回、ラットの疾患の徴候を観察した。以下のスコア付けシステムを用いた。等級０、症状無；（１）握力低下、易疲労、及び時に喘鳴；（２）全身的脱力、安静時猫背、体重減少、振戦；（３）重篤な脱力、瀕死；及び（４）死。プロトコルを表５に要約する。結果を表６及び図１６に示し、これはｍＡＢ４Ｂ４．１２がＥＡＭＧモデルにおける疾患の重篤度を低下させたことを示す。

【表６】

表6: 疾患状態

群	疾患無	疾患有
4B4.12	2	4
1813 (mIgG2a)	0	6
PBS	0	6

【０３５８】

体重減少又は体重増加を、各実験群のラットについて測定した。結果を表７及び図１７に示し、これは４Ｂ４．１２ｍＡＢで処理されたラットは、対応する対照群よりも体重減少の程度が少なかったことを示す。

【表７】

表７：体重変化

群	体重増加	体重減少
4B4.12	3	3
1813 (mIgG2a)	0	6
PBS	1	5

【０３５９】

実施例１５：Ｔｇ３２ＢマウスにおけるヒトｉｇＧ異化作用に対する本発明の抗体の効果

ｔ＝０時間（T_0）に、成体Ｔｇ３２Ｂマウスに５ｍｇ／ｋｇのビオチン－ｈＩｇＧ及び４９５ｍｇ／ｋｇのヒトＩｇＧ（ＭＰ Ｂｉｏｍｅｄｉｃａｌｓ，Ｉｒｖｉｎｅ，ＣＡ

）を静脈内注入した。次いで２４、４８、７２、９６、及び１２０時間目に、マウスに５０ｍｇ／ｋｇの本発明の抗体を静脈内注入した。対照注入をＰＢＳを用いて各時点で実施した。全ての時点、及び１６８時間目に、注入前に血液試料を採取した。血清を調製し、ビオチン－ｈＩｇＧを測定するＥＬＩＳＡを実施するまで－２０℃で保存した。

【０３６０】

ストレプトアビジンでコーティングしたプレート（Ｐｉｅｒｃｅ）を、ＰＢＳＴ（０．０５％のＴｗｅｅｎ２０を含有するＰＢＳ）で３回洗浄（２００μＬ／ウェル）することにより再水和した。血清試料及び標準を、２％ＢＳＡを含有するＰＢＳ（希釈バッファ）で希釈した。試料は１：１０，０００、１：２０，０００、１：３０，０００、及び１：４０，０００に希釈した。標準は、２００ｍｇ／ｍＬから１．５６ｎｇ／ｍＬまで２倍ずつ希釈した。プレートを３７℃で２時間インキュベートし、続いてＰＢＳＴで３回洗浄した。次いでプレートを、希釈バッファで１：２５，０００に希釈した１００μＬ／ウェルのヤギ抗ヒトＦｃ－ＨＲＰコンジュゲート（Ｐｉｅｒｃｅ）と共に室温で３０分間インキュベートした。ＰＢＳＴで３回洗浄した後、１００μＬのＴＭＢ溶液（ＢｉｏＦｘ）をプレートに添加し、プレートを、適切な色を呈するまで（最高標準のウェルが暗青色になったとき）室温、暗条件下でインキュベートした。１００μＬ／ウェルの０．２５Ｍ H_2SO_4 を添加して、呈色反応を停止させ、光学濃度を４５０ｎＭで測定した。

【０３６１】

結果は、３Ｂ３．１１がビオチン－ｈＩｇＧの血清濃度を著しく低下させたことを示し、これはＦｃＲｎ封鎖後ｈＩｇＧの異化作用をが増加することを示す（図１８及び１９）。

【０３６２】

実施例１６：種間反応性におけるｍＡＢの要約

ＭＡＢ４Ｂ４．１２、３Ｂ３．１１、３１．１、４．１３及び３Ｂ５．４を、種間でのＦｃＲｎの反応性について、ＦＡＣＳ結合アッセイ及びＦＡＣＳブロッキングアッセイで研究した。ヒトＦｃＲｎ発現細胞（２９３Ｃ１１）及びサルＦｃＲｎ発現細胞を産生した。ラット及びマウスＦｃＲｎ発現細胞をＮｅｉｌ　Ｓｉｍｉｓｔｅｒ　ｏｆ　Ｂｒａｎｄｅｉｓ　Ｕｎｉｖｅｒｓｉｔｙから得た。ブロッキング実験では、ＦｃＲｎ発現細胞を、ｐＨ６のＰＢＳバッファ中のＡｌｅｘａ－Ａ４８８標識ｈＩｇＧ１（１００ｎＭ）及び種々の濃度のｍＡＢ（４Ｂ４．１２、３Ｂ３．１１、３１．１、４．１３及び３Ｂ５．４、又はＩｇＧ１、ＩｇＧ２ａ等のアイソタイプ対照）と共にインキュベートした。４５分後、細胞を蛍光染色により分析し、ＴＭＦＩを算出した（詳細な方法については実施例６参照）。ｍＡＢがそれぞれのＦｃＲｎ発現細胞に対するｈＩｇＧ１の結合を３０％超阻害する場合、このｍＡＢはこの種においてｍＡＢをブロックするとみなされる。結合実験では、ＦｃＲｎ発現細胞を、ｐＨ７．４のＰＢＳバッファ中のＡｌｅｘａ－Ａ４８８標識ｍＡＢｓ（４Ｂ４．１２、３Ｂ３．１１、３１．１、４．１３及び３Ｂ５．４、又はＩｇＧ１、ＩｇＧ２ａ等のアイソタイプ対照）と共に６０分間インキュベートした。ＰＢＳバッファで１回洗浄した後、細胞を蛍光染色についてＣｏｕｌｔｅｒフローサイトメトリーで評価した。特定のｍＡＢの細胞への結合が、アイソタイプ対照の結合より有意に多い場合（ＴＭＦＩが５０％高い）、このｍＡＢはかかる種のＦｃＲｎに結合することができるとみなされる。表８及び図２０は、結果の要約を示す。

【表８】

表8：ｍＡＢの交差反応性の要約

mAB	アイソタイプ	結合			ブロッキング				
		ヒト	サル	ラット	マウス	ヒト	サル	ラット	マウス
4B4.12	IgG2a	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes
3B3.11	IgG1	Yes	Yes	No	Yes	Yes	Yes	No	No
31.1	IgG1	Yes	No	No	No	Yes	No	No	No
4.13	IgG1	Yes	No	Yes	Yes	Yes	No	No	No
３Ｂ５．４（抗β２ｍ）	IgG2a	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	No

【０３６３】

実施例１７：抗ｈＦｃＲｎ　ｍＡＢで染色されたサルＦｃＲｎ一過性形質移入体

Ｃｏｓ１細胞にサルＦｃＲｎ重鎖（ｐＣＤＮＡ６中）及びβ２Ｍ（ｐＥＤ．ｄｃ）をＧｅｎｅ　Ｊａｍｍｅｒトランスフェクション試薬（Ｓｔｒａｔｅｇｅｎｅ）と共にトランスフェクトした。４８時間後、細胞を回収し、０．５％のＢＳＡを含有するＰＢＳで１回洗浄した。５×１０^{5}個の細胞をｍＡＢと共に４５分間氷上でインキュベートした。次いで細胞を０．５％のＢＳＡを含有するＰＢＳで１回洗浄した。次いで細胞をＡｌｅｘａ４８８標識ヤギ抗マウスＩｇＧ（１：２５００希釈）と共に４５分間氷上でインキュベートした。１回洗浄した後、細胞をＣｏｕｌｔｅｒフローサイトメータで蛍光染色について分析した。結果をＴＭＦＩとして表す。

【０３６４】

実施例１８：抗ｈＦｃＲｎ　ｍＡＢを用いたウエスタンブロット

３μｇの可溶性ヒトＦｃＲｎ（重鎖及びβ２Ｍの細胞外ドメイン）を、４～２０％のトリス－グリシンゲル（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ）の各レーンに充填し、２００Ｖで６０分間流した。次いでゲルをＰＶＤＦメンブレン（Ａｍｅｒｓｈａｍ）を備えるゲルブロッティング装置（Ｘｃｅｌｌ　ＩＩ，Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ）に充填し、５５Ｖで１時間室温にて流した。次いでメンブレンをＰＢＳＴ（ＰＢＳ＋０．０５％のＴｗｅｅｎ２０）中の５％ミルクで１時間ブロッキングした。その後、メンブレンを１０μｇ／ｍＬの種々のｍＡＢと共に４℃で一晩インキュベートした。ＰＢＳＴで２回洗浄した後、メンブレンを１：１０，０００に希釈したヤギ抗ヒトＩｇＧ　ＨＲＰ（Ｓｏｕｔｈｅｒｎ　Ｂｉｏｔｅｃｈ　Ａｓｓｏｃｉａｔｅｓ）と共に９０分間インキュベートした。更に２回洗浄した後、メンブレンをＥＣＬキット（Ａｍｅｒｓｈａｍ）で現像した。結果は、ｍＡＢ３Ｂ３．１１、３Ｂ３．１６、３Ｂ３．２１、３Ｂ３．３５、４．１３、１５Ｂ６．１及び３１．１はヒトＦｃＲｎ重鎖を認識したが、一方３Ｂ５．４及び５Ａ４．９はβ２Ｍを認識したことを示す（図２１）。

【０３６５】

実施例１９：３Ｂ３．１１のＢｉａｃｏｒｅ分析

標準的なアミンカップリングを用いて、ＣＭ５チップ（Ｂｉａｃｏｒｅ）を約５００ＲＵの可溶性ヒトＦｃＲｎ又は可溶性サルＦｃＲｎ（ｐＨ４．５の酢酸で１００倍希釈）でコーティングした。１０μｇ／ｍＬの初期濃度から５種の５倍段階希釈抗体を作製した。各希釈液を５０μＬ／分で１分間、二重でチップに通した。データは、１：１結合相互作用について解析した。ｐＨ６及びｐＨ７．４で両方の結合を評価した（図２２及び表９）。

【表９】

表９：抗ｈＦｃＲｎ　ｍＡｂ３Ｂ３．１１のＢｉａｃｏｒｅ分析

mAb	ヒト FcRn			
	pH 6.0		pH 7.4	
	KD (nM)	Off-Rate (sec^{-1}) x 10^{-4}	KD (nM)	Off-Rate (sec^{-1} x 10^{-4})
3B3.11	1.17 ± 0.39	1.76 ± 0.79	0.16（n=2)	0.0145（n=2)
3B3_11（cyno)	3.23 ± 0.14	5.52 ±5.4	3.24 ± 0.30	2.47 ± 2.3

【０３６６】

実施例２０：抗ｈＦｃＲｎ　ｍＡＢのエピトープマッピング

可溶性ヒトＦｃＲｎ及びマウスモノクローナル抗体は社内で規定どおりに調製される。全ての試薬、バッファ、及び化学物質は、特に明示しない限りＢｉａｃｏｒｅ　ＡＢ（Ｕｐｓａｌａ，Ｓｗｅｄｅｎ）から購入した。

【０３６７】

器具の使用及び表面の調製：表面プラズモン共鳴を用いる巨大分子の相互作用の分析は（１）に詳細に記載されている。ＢＩＡＣＯＲＥ　３０００　ｉｎｓｔｒｕｍｅｎｔ（Ｂｉａｃｏｒｅ　ＡＢ）を用い、全ての結合相互作用は２５℃で実施した。カルボキシメチル修飾デキストラン（ＣＭ５）センサーチップ（Ｂｉａｃｏｒｅ　ＡＢ）をアッセイに用いた。抗ＦｃＲｎモノクローナル抗体を１０ｍＭの酢酸ナトリウム（ｐＨ５．０）で１～１０μｇ／ｍＬに希釈し、（１）に記載されているアミンカップリングを用いてセンサーチップの１つのフローセルに固定化した。最終的な固定化水準は約１００００共鳴単位（ＲＵ）であった。非ＦｃＲｎ特異的抗体（ｍＡＢ１７４５）の存在下で同じ手順を用いて、別個のフローセルを用いて対照抗体表面が作製され、結合研究の参照として機能した。

【０３６８】

アッセイ設計：可溶性ヒトＦｃＲｎ（ｓｈＦｃＲｎ）のアミノ酸配列を、各ペプチドが長さ２０残基伸長している２７個のペプチドの連続シリーズとして合成した。これらのペプチドは、１０個のアミノ酸の重複配列を有していた。ペプチドを、最終濃度が１～５ｍｇ／ｍＬになるように１００％ＤＭＳＯに溶解させた。分析のために、ペプチド溶液をＨＢＳ－Ｎバッファ（１０ｍＭ　ＨＥＰＥＳ、ｐＨ７．４；１５０ｍＭ　ＮａＣｌ）で１００倍に希釈し、２０μＬ／分の速度で３分間ＦｃＲｎ特異的抗体及び参照表面上に注入した。３５秒の相解離後、表面を６０μＬ／分の流速で、３０秒パルスの１０ｍＭグリシン（ｐＨ２．０）及び１５秒パルスの１％ＳＤＳにより再生した。陽性対照として、最初のペプチドの試験前及び最後のペプチドの試験後にｓｈＦｃＲｎを特異的及び対照フローセルに注入し、チップの安定性を確かめた。バッファ対照（ＨＢＳ－Ｎ中１％ＤＭＳＯ）もまた、陰性対照として両方のフローセルを通過させた。

【０３６９】

データの評価：対照でコーティングされた（非特異的ｍＡＢ）フローセルについて得られたセンサグラム（ＲＵ対時間）を、ＦｃＲｎでコーティングのセンサグラムから自動的に減じた。注入段階の終わる３０秒前に、平衡時における反応（Ｒｅｑ）を測定した（１）。陽性反応は、ペプチドの特異的抗体に対する特異的結合を示す（Ｆｒｏｓｔｅｌｌ－Ｋａｒｌｓｓｏｎ，ｅｔ　ａｌ．Ｊ．Ｍｅｄ．Ｃｈｅｍ．，４３：１９８６－１９９２（２０００））。

【０３７０】

ｍＡｂエピトープの要約

Syn 558: Ac-SCPHRLREHLERGRGNLEWK-CONH2 -----mAB 4B4.12, 4.13（配列番号２４）

Syn 559: Ac-ERGRGNLEWKEPPSMRLKAR-CONH2------mAB 4B4.12, 4.13（配列番号２５）

Syn 562: Ac-CSAFSFYPPELQLRFLRNGL-CONH2------mAB 3B3.11, 4.13（配列番号２６）
Syn 544: Ac-APGTPAFWVSGWLGPQQYLS-CONH2------mAB 31.1（配列番号２７）
【０３７１】
実施例２１：Ｆａｂの選択及び一次スクリーニング
Ａ．選択プロトコル
Ｆａｂ断片を提示するファージディスプレイライブラリから可溶性Ｆａｂ（ｓＦａｂ）を同定した。可溶性ヒト（ｓｈＦｃＲｎ）又はラットＦｃＲｎタンパク質、及びヒトＦｃＲｎタンパク質を発現する２９３Ｃ１１細胞を用いて４つの異なる選択を行った。また以下に概説するのと同じ溶出ストラテジを用いて、細胞及びタンパク質標的の組み合わせを用いて更なる選択を実施した。
１）ビオチン化ｓｈＦｃＲｎに対する選択：ストレプトアビジンビーズ上からの消失を用いて、ビオチン化ｓｈＦｃＲｎに対する選択を３ラウンド実施した。ファージミドを酸性結合バッファ（ｐＨ６）中で標的に結合させ、次いで酸性バッファ中の非特異的市販ヒトＩｇＧ（Ｃａｌｂｉｏｃｈｅｍ，４０１１１４　ｈｔｔｐ：／／ｗｗｗ．ｅｍｄｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ．ｃｏｍ／ｐｒｏｄｕｃｔ／４０１１１４）及びモノクローナルマウス抗ヒトＦｃＲｎ　ｍＡｂ（３Ｂ３）で溶出した。競合溶出後、残りの結合ファージを全て、細胞の直接ビーズ感染（ｄｉｒｅｃｔ　ｂｅａｄ　ｉｎｆｅｃｔｉｏｎ）により溶出した。溶出したファージのアウトプットを選択の次のラウンドのインプットとして用いた。
２）非ビオチン化ｓｈＦｃＲｎに対する選択：ＢＳＡでコーティングされたウェル上からの消失を用いて９６ウェルＥＬＩＳＡプレート上に受動的に固定化された非ビオチン化ｈＦｃＲｎに対する選択を３ラウンド実施した。ファージミドを酸性結合バッファ（ｐＨ６）中で標的に結合させ、次いで同酸性バッファ中の非特異的市販ヒトＩｇＧ及び抗ヒトＦｃＲｎ　ｍＡｂ（３Ｂ３）で溶出した。競合溶出後、残りの結合ファージを全て、細胞の直接ビーズ感染（ｄｉｒｅｃｔ　ｂｅａｄ　ｉｎｆｅｃｔｉｏｎ）により同様にｐＨ７．４のバッファを用いることにより溶出した。溶出したファージのアウトプットを選択の次のラウンドのインプットとして用いた。
３）抗ヒトＦｃＲｎ抗体（１７Ｄ３）固定化非ビオチン化ｓｈＦｃＲｎに対する選択：ストレプトアビジンビーズ上のビオチン化１７Ｄ３を用いて捕捉されたｈＦｃＲｎに対する選択を３ラウンド実施した。ＦｃＲｎの非存在下にてストレプトアビジンビーズ上でビオチン化１７Ｄ３を用いる消失工程も含まれていた。ファージミドを酸性結合バッファ（ｐＨ６）中で標的に結合させ、次いで同酸性バッファ中の非特異的市販ヒトＩｇＧ及び抗ヒトＦｃＲｎ　ｍＡｂ（３Ｂ３）で溶出した。競合溶出後、残りの結合ファージを全て、細胞の直接ビーズ感染（ｄｉｒｅｃｔ　ｂｅａｄ　ｉｎｆｅｃｔｉｏｎ）により同様にｐＨ７．４のバッファを用いることにより溶出した。溶出したファージのアウトプットを選択の次のラウンドのインプットとして用いた。
４）ｈＦｃＲｎ発現細胞に対する選択：トランスフェクトされていない親細胞上からの消失を用いてｈＦｃＲｎでトランスフェクトされた細胞に対する選択を３ラウンド実施した。ファージミドを酸性結合バッファ（ｐＨ６）中で細胞に結合させ、次いで同酸性バッファ中の非特異的市販ヒトＩｇＧ及び抗ヒトＦｃＲｎ　ｍＡｂで溶出した。競合溶出後、残りの結合ファージを全て、磁気ストレプトアビジンビーズによる細胞溶解とその後の細菌感染により溶出した。溶出したファージのアウトプットを選択の次のラウンドのインプットとして用いた。可溶性ヒトＦｃＲｎタンパク質（ｓｈＦｃＲｎ）及びｈＦｃＲｎ発現細胞の両方に対する選択：
【０３７２】
（１）、（２）、及び（４）のアウトプットを、上記ストラテジと同じ溶出を用いる交互タンパク質：細胞：タンパク質及び細胞：タンパク質：細胞（ラウンド１：ラウンド２：ラウンド３：ラウンド４）選択で用いた。ＦｃＲｎのＦａｂ阻害剤のＥＬＩＳＡスクリーニング。
【０３７３】
ｈＦｃＲｎ結合剤を同定するために、ファージＥＬＩＳＡにおけるビオチン化ｓｈＦｃ

Ｒｎに対して、上記各選択肢（ｓｅｌｅｃｔｉｏｎ　ａｒｍ）からのラウンド２及び／又はラウンド３のアウトプットの一次スクリーニングを実施した。約７６８の、ファージミド上の一次ＥＬＩＳＡ陽性Ｆａｂを再配置し、ＤＮＡの配列を決定し、ｐＨ依存性結合（ｐＨ６対ｐＨ７．５）、種特異性（ラット対ヒト）、β２マイクログロブリン結合、及びＩｇＧ競合について更に二次スクリーニングした。

【０３７４】

二次ＥＬＩＳＡスクリーニングを通過した１６１の独自のファージミドは異なる重鎖を有していた。全ての１６１個の独自のファージミドをサブクローニングし、ｓＦａｂとして発現させ、ＦＡＣＳブロッキングアッセイでスクリーニングした。

【０３７５】

ＩｇＧ－ＦｃのヒトＦｃＲｎ発現２９３Ｃ１１細胞に対するブロッキングを、酸性環境下、４℃にて実施し、拮抗性抗ＦｃＲｎ特性を有する１１個のｓＦａｂが発見された。１１個全てのｓＦａｂ　Ｆｃ－ＦｃＲｎ遮断剤をＩｇＧ１にリフォーマットし、ＡＺアロタイプとしてリフォーマットし、更に可溶性ヒト及びラットＦｃＲｎに対する親和性（ＳＰＲ法によりK_D決定）、ＦＡＣＳ分析を用いるＦｃ－ＦｃＲｎブロッキング（ＩＣ５０）、β２マイクログロブリン結合（ＳＰＲにより）、ｐＨ依存性結合、並びにｐＨ６及びｐＨ７．５における可溶性タンパク質及び細胞に対するブロッキング（ＦＡＣＳ及びＳＰＲによるヒトＦｃＲｎ及びラットＦｃＲｎ）についてインビトロで更に特徴付けした。

【０３７６】

実施例２２：抗ＦｃＲｎ　Ｆａｂ

ファージディスプレイライブラリ選択で同定された代表的な抗ＦｃＲｎ　ＦａｂのＣＤＲ配列を表１０に示す。

【表１０】

表１０：抗ＦｃＲｎファージミドＦａｂアミノ酸ＣＤＲ配列の要約

Fab	LV-CDR1	LV-CDR2	LV-CDR3	HV-CDR1	HV-CDR2	HV-CDR3
532A-M0090-F09	SGSSSNIGSNTVS (配列番号 28)	SDNQRPS (配列番号 29)	AAWDDSLKGWV (配列番号 30)	DYTMS (配列番号 31)	SIWSSGGATVYADSVKG (配列番号 32)	DIRGSRNWFDP (配列番号 33)
532A-M0090-F11	TGTGSDVGSYNLVS (配列番号 34)	GDSQRPS (配列番号 35)	CSYAGSGIYV (配列番号 36)	EYAMG (配列番号 37)	SIGSSGGQTKYADSVKG (配列番号 38)	LSTGELY (配列番号 39)
532A-M0062-C09	RSSQSLLHSNGYNYLD (配列番号 40)	LVSNRAS (配列番号 41)	MQAQQTPIT (配列番号 42)	HYSMT (配列番号 43)	SIVPSGGETSYADSVKG (配列番号 44)	GHSGVGMDV (配列番号 45)
532A-M0064-H04	RSSQSLLHGNGHTYLD (配列番号 46)	LVSNRAS (配列番号 47)	MQGLQTPRT (配列番号 48)	FYSMT (配列番号 49)	GIRSSGGSTRYADSVKG (配列番号 50)	GWGLDAFDV (配列番号 51)
532A-M0057-F02	RSSLSLLHSNGYIYLD (配列番号 52)	LGSHRAS (配列番号 53)	MQPLQTPYT (配列番号 54)	YYHMN (配列番号 55)	VISPSGGVTMYADSVKG (配列番号 56)	GKAFDI (配列番号 57)
532A-M0084-B11	SGDKLGDKYVS (配列番号 58)	QDNRRPS (配列番号 59)	QAWLSNTASVA (配列番号 60)	FYGMH (配列番号 61)	GIYSSGGITGYADSVKG (配列番号 62)	GLRTFDY (配列番号 63)
532A-M0084-B03	RASQPVGSYLA (配列番号 64)	GASNRAT (配列番号 65)	QHYGHSPPYT (配列番号 66)	SYAMY (配列番号 67)	RIVPSGGGTMYADSVQG (配列番号 68)	GMDV (配列番号 69)
532A-M0073-E10	RASQSVSSYLA (配列番号 70)	DASNRAT (配列番号 71)	QQRSNWPLT (配列番号 72)	NYNMS (配列番号 73)	YISPSGGSTWYADSVKG (配列番号 74)	YHYGMDV (配列番号 75)
532A-M0056-G05	RASQSISNHLV (配列番号 76)	DASNRAT (配列番号 77)	QQRSNWPPT (配列番号 78)	YYGMT (配列番号 79)	SISPSGGHTSYADSVKG (配列番号 80)	GPEYFFGVY (配列番号 81)
532A-M0055-G12	RASQSVGSYLN (配列番号 82)	AAYILQS (配列番号 83)	QQSYSNRIT (配列番号 84)	AYNMI (配列番号 85)	SIGPSGGKTVYADSVKG (配列番号 86)	VRSGFWSGHDY (配列番号 87)
532A-M0092-D02	RASQSVSSSYLA (配列番号 88)	GASSRAT (配列番号 89)	QQYGSSPRT (配列番号 90)	HYGMS (配列番号 91)	YIRPSGGKTIYADSVKG (配列番号 92)	DSWGSFPNDAFDI (配列番号 93)

【０３７７】

３つのＦａｂ軽鎖可変領域（ＬＶ）のＤＮＡ配列を以下に示す：

【化１０】

>M0062-C09 LVκ
CAAGACATCCAGATGACCCAGTCTCCAGACTCCCTGCCCGTCACCCCTGGAGAGCCGGCCTCCATCTCCTGCAGGTCTAG
TCAGAGCCTCCTGCATAGTAATGGATACAACTATTTGGATTGGTACCTGCAGAGGCCAGGGCAGTCTCCGCAGCTCCTGA
TCTATTTGGTTTCTAATCGGGCCTCCGGGGTCCCTGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCAGGCACAGATTTTACACTGAAA
ATCAGCAGAGTGGAGGCTGAAGATGCTGGATTTTATTACTGCATGCAAGCTCAACAAACTCCGATCACCTTCGGCCAAGG
GACACGACTGGAGATTAAA（配列番号９４）
>M0057-F02 LVκ
CAAGACATCCAGATGACCTAGTCTCCACTCTCCCTGCCCGTCACCCCTGGAGAGCCGGCCTCCATGTCCTGCAGGTCTAG
TCTGAGCCTCCTGCATAGTAATGGATACATCTATTTGGATTGGTACCTGCAGAGGCCAGGACAGTCTCCACAGCTCCTGA
TGTATTTGGGTTCTCATCGGGCCTCCGGGGTCCCTGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCAGGCACAGATTTTACACTGAAC
ATCAGCAGAGTGGAGGCGGAGGATGTTGGGGTTTATTACTGCATGCAACCTCTACAAACTCCGTACACTTTTGGCCAGGG
GACCAAGCTGGAGATCAAA（配列番号９５）
>M0055-G12 LVκ
CAAGACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCAAG
TCAGAGCGTTGGCAGTTATTTAAATTGGTATCAGCAGAAACCAGGCGAAGCCCCTAAGGCCCTGATCTATGCTGCATACA
TTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCGAGGTTCAGTGGCAGCGGCTCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAACAGTCTACAA
CCTGAAGATTTTGCAACTTATTACTGTCAACAGAGTTACAGTAATAGAATCACTTTCGGCCCTGGGACCAGAGTGGATGT
CAAA（配列番号９６）
>M0064-H04 LVκ
CAAGACATCCAGATGACCCAGTCTCCACTCTCCCTGCCCGTCACCCCTGGAGAGCCGGCCTCCATCTCCTGCAGGTCTAG
TCAGAGCCTCCTGCACGGAAATGGACACACCTATTTGGATTGGTATCTGCAGAAGCCAGGGCAGTCTCCACAGCTCCTGA
TCTATTTGGTTTCTAATCGGGCCTCCGGGGTCCCTGACAGGTTCAGTGGCAGTGGATCAGGCACAGATTTTACACTGAAA
ATCAGCAGAGTGGAGGCTGAAGATGTTGGGGTTTATTACTGCATGCAAGGTCTACAAACTCCGAGGACGTTCGGCCAGGG
GACCAAGGTGGAAATCAAA（配列番号９７）
>M0056-G05 LVκ
CAAGACATCCAGATGACCCAGTCTCCAGCCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAG
TCAGAGTATTAGCAACCACTTAGTCTGGTTCCAACAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGATGCATCCA
ACAGGGCCACTGGCATCCCAGCCAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTAGAG
CCTGAAGATTTTGCAGTTTATTACTGTCAGCAGCGTAGCAACTGGCCTCCCACCTTCGGCCAAGGGACACGACTGGAGAT
TAAA（配列番号９８）
>M0084-B03 LVκ
CAAGACATCCAGATGACCCAGTCTCCAGCCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAACAGCCACCCTCTCCTGCCGGGCCAG
TCAGCCTGTTGGCAGCTACTTAGCCTGGTACCAACAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGGTGCATCCA
ATAGGGCCACTGGCATCCCAGCCAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCGCCATCAGCAGCCTGGAG
CCTGAAGATTTTGGAGTGTATTACTGTCAGCACTATGGTCACTCACCTCCGTACACTTTTGGCCAGGGGACCAAGCTGGA
GATCAAA（配列番号９９）
>M0092-D02 LVκ
CAAGACATCCAGATGACCCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAG
TCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGGTGCAT
CCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTG
GAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCTCGGACGTTCGGCCAAGGGACCAAGGTGGA
AATCAAA（配列番号１００）
>M0090-F09 LVλ

CAGAGCGCTTTGACTCAGCCACCCTCAGCGTCTGAGACCCCCGGGCAGAGAGTCACCATCTCTTGTTCTGGAAGCAGCTC
CAACATCGGAAGTAATACTGTAAGCTGGTACCAGCAGCTCCCAGGAACGGCCCCCAAACTCCTCATCTATAGTGATAATC
AGCGGCCCTCAGGGGTCCCTGACCGATTCGCTGGCTCCAAGTCTGGCACCTCTGCCTCCCTGGCCATCAGTGGGCTCCAG
TCTGAGGATGAGGCTGAATATCACTGTGCAGCATGGGATGACAGCCTGAAGGGTTGGGTGTTCGGCGGAGGGACAAAGCT
GACCGTCCTA（配列番号１０１）
>M0084-B11 LVλ
CAGAGCGCTTTGACTCAGACACCCTCAGTGTCCGTGTCCCCCGGACAGACAGCCACCATCACCTGCTCTGGAGATAAATT
GGGGGATAAGTATGTTTCTTGGTTTCAACAGAAGCCAGGCCAGTCCCCTATCCTACTCCTTTATCAAGACAACAGGCGGC
CCTCTGGGATCCCTGAACGATTCTCTGGCTCCAATTCTGGGAACACAGCCTCTCTGACCATCAGCGGGACCCAGGCTATG
GATGAGGCTGACTACCACTGTCAGGCGTGGCTCAGCAATACTGCTTCCGTGGCATTCGGCGGAGGGACCAGGCTGACCGT
CCTC（配列番号１０２）
>M0073-E10 LVκ
CAAGACATCCAGATGACCCAGTCTCCAGCCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAG
TCAGAGTGTTAGCAGCTACTTAGCCTGGTACCAACAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGATGCATCCA
ACAGGGCCACTGGCATCCCAGCCAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTAGAG
CCTGAAGATTTTGCAGTTTATTACTGTCAGCAGCGTAGCAACTGGCCCCTCACTTTCGGCGGAGGGACCAAGGTGGAGAT
CAAA（配列番号１０３）
>M0090-F11 LVλ
CAGAGCGTCTTGACTCAGCCTGCCTCCGTGTCGGGGTCTCCTGGACAGTCGATCACCATCTCCTGCACTGGGACCGGGAG
TGATGTTGGAAGTTATAACCTTGTCTCCTGGTACCAAAAGTACCCCGGCAAAGCCCCCAAACTCATCATTTATGGGGACA
GTCAGCGGCCCTCGGGACTTTCTAGTCGCTTCTCTGGCTCCAAGTCTGGCAACTCGGCCTCCCTGACAATCTCTGGGCTC
CAGGCTGAGGACGAGGCTGATTATTACTGTTGCTCATATGCAGGTAGTGGCATTTACGTCTTTGGCAGTGGGACCAAGGT
CACCGTCCT A（配列番号１０４）

【０３７８】

実施例２３：ｓＦａｂ及び抗体のＦｃＲｎへの結合

Ｆａｂ及びそのそれぞれのＩｇＧ１を更に特徴付けするために、ＳＰＲ８５００／ＢＩＡＣＯＲＥ（商標）分析を、ＦｃＲｎ結合が陽性であった１１個の代表的な拮抗性抗ＦｃＲｎ抗体クローンに対して実施し、K_Dを決定した。代表的なＳＰＲ８５００／ＢＩＡＣＯＲＥ（商標）データを表２及び表３に示す。ｓＦａｂ及び抗体（ＩｇＧ）を、ｐＨ６及び７．５でヒトＦｃＲｎ（ｈＦｃＲｎ）又はラットＦｃＲｎ（ラットＦｃＲｎ）に結合する能力について試験した。結合はＳＰＲ８５００及びＢＩＡＣＯＲＥ（商標）により測定され、K_D値（ｎＭ）で表される。８クローンの結合はｐＨ非依存性であり、３クローンの結合はｐＨ依存性であることが観察された。

表１１Ａ～Ｅ：ＦｃＲｎ結合ｓＦａｂのインビトロＳＰＲ８５００結合データ（K_D（ｎＭ））の要約；Ｏｎ及びＯｆｆ　Ｒａｔｅ分析

【表１１】

表１１Ａ：結合データ

拮抗性抗ＦｃＲｎ　ＩｇＧデータ	SPR 8500	SPR 8500	SPR 8500	SPR 8500
可溶性 Fabs	sol FAB	sol FAB	sol FAB	sol FAB
	sol hFcRn	sol hFcRn	sol ラット FcRn	sol ラット FcRn
クローン番号	K_D nM @ pH 6	K_D nM @ pH 7.5	K_D nM @ pH 6	K_D nM @ pH 7.5
532A-M0090-F11	9.2	19.1	31.2	9.9
532A-M0064-H04	28	25.9	結合せず	結合せず
532A-M0090-F09 （pH 依存性）	5.7	結合せず	結合せず	結合せず
532A-M0084-B03（pH 依存性）	適合せず	結合せず	結合せず	結合せず
532A-M0062-C09（pH 依存性）	25	結合せず	結合せず	結合せず
532A-M0055-G12	12	39.7	結合せず	結合せず
532A-M0056-G05	13.6	18.1	結合せず	結合せず
532A-M0084-B11	17.4	19.6	結合せず	結合せず
532A-M0092-D02	3.9	18.7	結合せず	結合せず
532A-M0073-E10	82	9.7	結合せず	結合せず
532A-M0057-F02	29	11.3	結合せず	結合せず

【表１２】

表１１Ｂ：ｈＦｃＲｎ　ｐＨ６

	kon	koff	KD
17D3	2.77E+05	4.30E-04	1.5E-09
3B3	3.82E+06	1.31E-03	3.4E-10
Fcl	---	---	---
ｈＩｇＧ黒色腫	---	---	---
ｈＩｇＧ血漿	--- 4.32E+03	2.31E-03	5.3E-07
X0002 - G07	2.06E+04	1.24E-04	6.0E-09
M0055 - G12	1.27E+06	1.53E-02	1.2E-08
M0057 - F02	1.48E+05	4.26E-03	2.9E-08
M0062 - C09	9.44E+04	2.38E-03	2.5E-08
M0064 - H04	1.29E+05	3.68E-03	2.8E-08
M0073 - E10	3.36E+05	2.75E-02	8.2E-08
M0090 - F11	9.68E+04	8.97E-04	9.2E-09
X0002 - A07	---	---	---

【表１３】

表１１Ｃ：ｈＦｃＲｎ　ｐＨ７．４

	kon	koff	KD (
17D3	3.24E+05	5.23E-04	1.61E-09
3B3	2.97E+06	1.76E-03	5.93E-10
Fcl	---	---	---
ｈＩｇＧ黒色腫	---	---	---
ｈＩｇＧ血漿	---	---	---
X0002 - G07	---	---	---
M0055 - G12	2.01E+05	7.96E-03	3.97E-08
M0057 - F02	3.25E+05	3.67E-03	1.13E-08
M0062 - C09	---	---	---
M0064 - H04	1.55E+05	4.02E-03	2.59E-08
M0073 - E10	3.59E+05	3.49E-03	9.71E-09
M0090 - F11	5.94E+04	1.13E-03	1.91E-08
X0002 - A07	---	---	---

【表１４】

表１１Ｄ：ラットＦｃＲｎ　ｐＨ６

	kon	koff	KD
17D3	1.74E+04	6.03E-03	3.40E-07
3B3	6.83E+05	1.04E-03	1.50E-09
Fcl	2.08E+05	3.29E-03	1.58E-08
ｈＩｇＧ黒色腫	1.30E+05	1.27E-03	9.80E-09
ｈＩｇＧ血漿	9.13E+04	2.42E-03	2.65E-08
X0002 - G07	9.70E+04	8.62E-04	8.90E-09
M0055 - G12	---	---	---
M0057 - F02	---	---	---
M0062 - C09	---	---	---
M0064 - H04	---	---	---
M0073 - E10	---	---	---
M0090 - F11	1.84E+04	5.73E-04	3.12E-08
X0002 - A07	---	---	---

【表１５】

表１１Ｅ：ラットＦｃＲｎ　ｐＨ７．４

	kon	koff	KD
17D3	---	---	---
3B3	---	---	---
Fcl	---	---	---
ｈＩｇＧ黒色腫	---	---	---
ｈＩｇＧ血漿	---	---	---
X0002 - G07	---	---	---
M0055 - G12	---	---	---
M0057 - F02	---	---	---
M0062 - C09	---	---	---
M0064 - H04	---	---	---
M0073 - E10	---	---	---
M0090 - F11	2.75E+04	7.40E-04	9.96E-09
X0002 - A07	---	---	---

表１２～Ｅ：ＦｃＲｎ結合抗体のインビトロＳＰＲ８５００結合データ（K_D（ｎＭ））の要約；Ｏｎ及びＯｆｆ　Ｒａｔｅ分析

【表１６】

表１２Ａ：結合データ

拮抗性抗-FcRn IgG データ	SPR 8500	SPR 8500	SPR 8500	SPR 8500
Format	IgG	IgG	IgG	IgG
	hFcRn	hFcRn	ラット FcRn	ラット FcRn
クローン番号	K_D @pH 6	K_D @pH 7.5	K_D @pH 6	K_D @pH 7.5
532A-M0090-F11	2.44	10.8	9.8	9.14
532A-M0064-H04	6.82	12.5	31	結合せず
532A-M0090-F09 （pH 依存性)	3.64	適合せず	13.9	結合せず
532A-M0084-B03（pH 依存性)	2.99	適合せず	29.6	結合せず
532A-M0062-C09（pH 依存性)	29.5	適合せず	適合せず	結合せず
532A-M0055-G12	3.1	10.2	16	結合せず
532A-M0056-G05	2.48	2.1	22.9	結合せず
532A-M0084-B11	3.3	2.59	6.43	結合せず
532A-M0092-D02	17.9	24.2	30.2	結合せず

【表１７】

表１２Ｂ：ｈＦｃＲｎ　ｐＨ６

	Kon	Koff	KD
M62-C9 (Fab)	8.12E+04	1.60E-03	1.97E-08
M90-F11(Fab)	9.21E+04	5.63E-04	6.11E-09
M62-C09 (IgG)	2.36E+05	6.95E-03	2.95E-08
M90-F11 (IgG)	1.02E+06	2.48E-03	2.44E-09
3B3	2.30E+06	9.40E-04	4.09E-10
17D3	8.17E+04	1.81E-04	2.22E-09
M92-D2	3.87E+04	6.92E-04	1.79E-08
M56-G05	1.13E+05	2.80E-04	2.48E-09
M84-B03	1.14E+05	3.40E-04	2.99E-09
SA-A08	---	---	---
FCI	---	---	
ヒトｈＩｇＧ黒色腫	---	---	---
ヒトｈＩｇＧ血漿	3.89E+04	6.85E-04	1.76E-08
X11-5	---	---	---
M55-G12	7.49E+04	2.32E-04	3.10E-09
M73-E10	---	---	---
M84-B11	7.53E+04	2.48E-04	3.30E-09
M64-H04	1.04E+05	7.06E-04	6.82E-09
M90-F09	3.14E+05	1.14E-03	3.64E-09

【表１８】

表１２Ｃ：ｈＦｃＲｎ　ｐＨ７．４

	Kon	Koff	KD
M90-F11(Fab)	9.12E+04	6.45E-04	7.08E-09
M90-F11 (IgG)	1.59E+05	1.73E-03	1.08E-08
SA-A08	---	---	---
FCI	---	---	---
M84-B11	1.31E+05	3.41E-04	2.59E-09
M64-H04	2.17E+05	2.71E-03	1.25E-08
M73-E10	---	---	---
M55-G12	7.78E+04	7.97E-04	1.02E-08
X11-5	---	---	---
M62-C09	---	---	---
M62-C09 IgG	---	---	---
M84-B03	---	---	---
M56-G05	4.14E+05	8.68E-04	2.10E-09
M90-F09	---	---	---
3B3	3.41E+06	2.30E-03	6.75E-10
M92-D2	8.16E+04	1.98E-03	2.42E-08
17D3	1.21E+05	2.42E-04	2.01E-09
ヒトｈＩｇＧ黒色腫	---	---	---
ヒトｈＩｇＧ血漿	---	---	---

【表１９】

表１２Ｄ：ラットＦｃＲｎ　ｐＨ６

	Kon	Koff	KD
M90-F11 (IgG)	1.19E+05	1.17E-03	9.80E-09
M90-F11(Fab)	4.30E+04	8.72E-04	2.03E-08
M90-F09	3.21E+05	4.46E-03	1.39E-08
M62-C09 (Fab)	---	---	
M62-C09	---	---	
M64-H04	7.80E+04	2.42E-03	3.10E-08
M84-B11	3.14E+05	2.02E-03	6.43E-09
M73-E10	---	---	---
M55-G12	1.99E+05	3.20E-03	1.60E-08
X11-5	---	---	---
M84-B03	1.56E+05	4.63E-03	2.96E-08
M56-G05	4.78E+04	1.09E-03	2.29E-08
M92-D2	4.93E+04	1.49E-03	3.02E-08
M55-G12	1.99E+05	3.20E-03	1.60E-08
3B3	---	---	---
ヒトｈＩｇＧ血漿	2.33E+05	1.42E-03	6.12E-09
ヒトｈＩｇＧ黒色腫	---	---	---
FCI	---	---	---
SA-A08	---	---	---

【表２０】

表１２Ｅ：ラットＦｃＲｎ　ｐＨ７．４

	Kon	Koff	KD
M90-F11	1.17E+06	3.84E-03	3.29E-09
M90-F11 (IgG)	1.25E+05	1.14E-03	9.14E-09
SA-A08	---	---	---
FCI	---	---	---
M84-B11	---	---	---
M64-H04	---	---	---
M73-E10	---	---	---
M55-G12	---	---	---
X11-5	---	---	---
M62-C09	---	---	---
M62-C09 (IgG)	---	---	---
M84-B03	---	---	---
M56-G05	---	---	---
M90-F09	---	---	---
3B3	---	---	---
M92-D2	---	---	---
17D3	---	---	---
ヒトｈＩｇＧ黒色腫	---	---	---
ヒトｈＩｇＧ血漿	---	---	---

【０３７９】

実施例２４：ｓＦａｂ及び抗体のＩＣ$_{50}$値

ＦｃＲｎ結合について陽性であった１１個の代表的な拮抗性抗ＦｃＲｎクローンのｓＦａｂ及びＩｇＧ抗体を、インビトロモデルにおいて、非特異的ヒトＩｇＧ－ＦｃのＦｃＲｎに対する結合をブロックする能力について試験した。ヒトＦｃＲｎ（ｈＦｃＲｎ）又はラットＦｃＲｎ（ラットＦｃＲｎ）を発現している２９３Ｃ１１細胞の培養物を、結合陽性クローン、陽性対照抗ラットＦｃＲｎ抗体（１Ｇ３）、陽性対照抗ヒトＦｃＲｎ抗体（３Ｂ３）、又はＳＡ－Ａ２陰性対照のｓＦａｂ又はＩｇＧ１で処理した。細胞培養物をＡｌｅｘａｆｌｕｏｒ（登録商標）標識非特異的ＩｇＧ－Ｆｃで処理し、ｐＨ６のバッファ条件下で４℃にてインキュベートした。ＩｇＧ－Ｆｃ－ＦｃＲｎ結合量を測定した。代表的なｓＦａｂ及び／又はそれぞれのＩｇＧの結果を表１３に示す。ＩＣ$_{50}$値はフローサイトメトリー（即ちＦＡＣＳ）により決定され、ｎＭで表される。

【表２１】

表１３：ＦｃＲｎ結合抗体のインビトロＦＡＣＳ阻害データ（IC_{50}（ｎＭ））の要約

拮抗性抗 FcRn IgG データ	FACS（ブロッキング）	FACS（ブロッキング）	FACS（ブロッキング）	FACS（ブロッキング）
IC50	sol FAB	sol FAB	IgG	IgG
	hFcRn（細胞）	rat FcRn（細胞）	hFcRn（細胞）	rat FcRn（細胞）
クローン番号	IC50 nM @ pH 6	IC50 nM @ pH 6	IC50 nM @ pH 6	IC50 nM @ pH 6
532A-M0090-F11	13	6481	2.6	4.9
532A-M0064-H04	63	ブロックせず	1.8	20
532A-M0090-F09（pH依存性）	645	ブロックせず	4.6	5.5
532A-M0084-B03（pH依存性）	754	ブロックせず	1.8	91
532A-M0062-C09（pH依存性）	35	ブロックせず	3.9	148
532A-M0055-G12	228	ブロックせず	1.7	30
532A-M0056-G05	337	ブロックせず	1.4	18
532A-M0084-B11	355	ブロックせず	1.9	25
532A-M0092-D02	271	ブロックせず	1.2	15
532A-M0073-E10	110	ブロックせず	377	161
532A-M0057-F02（amber stop）	70	ブロックせず	NA	NA
ストレプトアビジン結合剤 SA-A2 IgG（陰性対照）	NA	NA	562	101
lead 3B3 マウス抗ヒト FcRn IgG			9.7	
lead 1G3 マウス抗ラット FcRn IgG	NA	NA		1.5

【０３８０】

実施例２５：動物におけるＦｃＲｎ結合抗体の有効性試験

ヒトＦｃＲｎノックインＴｇ３２Ｂトランスジェニックマウスを用いた実験は、Ｍ９０－Ｆ１１（Ｍ０９０－Ｆ１１及びＭ００９０－Ｆ１１とも称される）ＩｇＧの４回連続毎日静脈内投与が、試験した全ての用量（５０、２０、１０、及び５ｍｇ／ｋｇ）でヒトＩｇＧトレーサ（ビオチン化ｈＩｇＧ）の血清半減期を著しく短縮させることを示した（図２３及び図２４）。５０ｍｇ／ｋｇでは、Ｍ５５－Ｇ１２の４回ｉｖ注入がトレーサｈＩ

ｇＧの血清半減期を中程度にのみ短縮させたが、一方Ｍ８４－Ｂ１１は有効ではなかった（図２３）。Ｍ９０－Ｆ１１の単回投与（２０ｍｇ／ｋｇ及び５ｍｇ／ｋｇ）実験は、Ｔｇ３２Ｂマウスの血清におけるビオチン－ｈＩｇＧ１トレーサの中程度の低下を示した（図２５）。

【０３８１】

トランスジェニックマウスにおける抗ＦｃＲｎ　ＩｇＧの試験に用いられたプロトコルは、

１）０時間で５００ｍｇ／ｋｇのトレーサｈＩｇＧを静脈内投与（約１％は定量の目的のためにビオチン化）

２）２４、４８、７２、９６、及び１２０時間に５０、２０、１０、及び５ｍｇ／ｋｇの抗ＦｃＲｎ抗体を静脈内投与、

３）２４、４８、７２、９６、及び１２０時間に血液試料を採取、

４）ＥＬＩＳＡにより血清中のｈＩｇＧを定量。

【０３８２】

Ｔｇマウスモデルのインビボにおけるデータに基づいて、更なるリード最適化のためにＭ９０－Ｆ１１をリード候補として選択した。Ｍ９０－Ｆ１１軽鎖に導入された１０個の生殖系変化を以下及び図２９に示す。重鎖に必要な１つの生殖系変化は導入されなかったが、重鎖のアロタイプはＡＺからＦアロタイプに変化した。

【化１１】

軽鎖定常

```
          S  Q  P  K  A  N  P  T  V  T  L  F  P  P  S  S  E  E  L  Q  A
CONST:  AGTCAGCCCAAGGCCAACCCCACTGTCACTCTGTTCCCGCCCTCCTCTGAGGAGCTCCAAGCC

GRMLN:  GGTCAGCCCAAGGCCAACCCCACGGTCACTCTGTTCCCGCCCTCCTCTGAGGAGCTCCAAGCC
          G  Q  P  K  A  N  P  T  V  T  L  F  P  P  S  S  E  E  L  Q  A

          N  K  A  T  L  V  C  L  I  S  D  F  Y  P  G  A  V  T  V  A  W
CONST:  AACAAGGCCACACTAGTGTGTCTGATCAGTGACTTCTACCCGGGAGCTGTGACAGTGGCCTGG

GRMLN:  AACAAGGCCACACTAGTGTGTCTGATCAGTGACTTCTACCCGGGAGCTGTGACAGTGGCTTGG
          N  K  A  T  L  V  C  L  I  S  D  F  Y  P  G  A  V  T  V  A  W

          K  A  D  G  S  P  V  K  A  G  V  E  T  T  K  P  S  K  Q  S  N
CONST:  AAGGCAGATGGCAGCCCCGTCAAGGCGGGAGTGGAGACCACCAAACCCTCCAAACAGAGCAAC

GRMLN:  AAGGCAGATGGCAGCCCCGTCAAGGCGGGAGTGGAGACGACCAAACCCTCCAAACAGAGCAAC
          K  A  D  G  S  P  V  K  A  G  V  E  T  T  K  P  S  K  Q  S  N

          N  K  Y  A  A  S  S  Y  L  S  L  T  P  E  Q  W  K  S  H  R  S
CONST:  AACAAGTACGCGGCCAGCAGCTACCTGAGCCTGACGCCCGAGCAGTGGAAGTCCCACAGAAGC

GRMLN:  AACAAGTACGCGGCCAGCAGCTACCTGAGCCTGACGCCCGAGCAGTGGAAGTCCCACAGAAGC
          N  K  Y  A  A  S  S  Y  L  S  L  T  P  E  Q  W  K  S  H  R  S


          Y  S  C  Q  V  T  H  E  G  S  T  V  E  K  T  V  A  P  A  E  C  S
CONST:  TACAGCTGCCAGGTCACGCATGAAGGGAGCACCGTGGAGAAGACAGTGGCCCCTGCAGAATGCTCT

GRMLN:  TACAGCTGCCAGGTCACGCATGAAGGGAGCACCGTGGAGAAGACAGTGGCCCCTACAGAATGTTCA
          Y  S  C  Q  V  T  H  E  G  S  T  V  E  K  T  V  A  P  T  E  C  S
```

ＣＯＮＳＴアミノ酸（配列番号１０７）
ＣＯＮＳＴ核酸（配列番号１０８）
ＧＲＭＬＮ核酸（配列番号１１０）
ＧＲＭＬＮアミノ酸（配列番号１０９）
ＨＥＡＶＹアミノ酸（配列番号１１１）
ＨＥＡＶＹ核酸（配列番号１１２）
ＧＲＭＬＮ核酸（配列番号１１４）

ＧＲＭＬＮ　アミノ酸（配列番号１１３）
【化１２】

```
HEAVY:V:V3-23;J:JH1
                                    FR1-H
          E  V  Q  L  L  E  S  G  G  G  L  V  Q  P  G  G  S  L  R  L  S  C
HEAVY:  GAAGTTCAATTGTTAGAGTCTGGTGGCGGTCTTGTTCAGCCTGGTGGTTCTTTACGTCTTTCTTGC

GRMLN:  GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGT
          E  V  Q  L  L  E  S  G  G  G  L  V  Q  P  G  G  S  L  R  L  S  C

                                  CDR1-H
          A  A  S  G  F  T  F  S   E  Y  A  M  G    W  V  R  Q  A  P  G  K  G
HEAVY:  GCTGCTTCCGGATTCACTTTCTCT GAGTACGCTATGGGT TGGGTTCGCCAAGCTCCTGGTAAAGGT

GRMLN:  GCAGCCTCTGGATTCACCTTTAGC AGCTATGCCATGAGC TGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGG
          A  A  S  G  F  T  F  S   S  A  Y  M  S    W  V  R  Q  A  P  G  K  G

            FR2-H                               CDR2-H
          L  E  W  V  S   S  I  G  S  S  G  G  Q  T  K  Y  A  D  S  V  K  G
HEAVY:  TTGGAGTGGGTTTCT TCTATCGGTTCTTCTGGTGGCCAGACTAAGTATGCTGACTCCGTTAAAGGT

GRMLN:  CTGGAGTGGGTCTCA GCTATTAGTGGTAGTGGTGGTAGCACATACTACGCAGACTCCGTGAAGGGC
          L  E  W  V  S   A  I  S  G  S  G  G  S  T  Y  Y  A  D  S  V  K  G

                        FR3-H
          R  F  T  I  S  R  D  N  S  K  N  T  L  Y  L  Q  M  N  S  L  R  A
HEAVY:    CGCTTCACTATCTCTAGAGACAACTCTAAGAATACTCTCTACTTGCAGATGAACAGCTTAAGGGCT

GRMLN:    CGGTTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCC
          R  F  T  I  S  R  D  N  S  K  N  T  L  Y  L  Q  M  N  S  L  R  A

                                          CDR3-H                  FR4-H
          E  D  T  A  V  Y  Y  C  A  R    L  S  T  G  E  L  Y    W  G  Q  G  T
HEAVY:  GAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGA CTCTCAACAGGGGAGCTCTAC  TGGGGCCAGGGCACC

GRMLN:  GAGGACACGGCCGTATATTACTGTGCGAAA GA.................TAC  TGGGGCCAGGGCACC
          E  D  T  A  V  Y  Y  C  A  K                      Y    W  G  Q  G  T

             FR4-H
          L  V  T  V  S  S
HEAVY:    CTGGTCACCGTCTCAAGC

GRMLN:    CTGGTCACCGTCTCATCA
```

```
•(a,z) ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS
•(f)   --------------------------------------------------
•(a,z) GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKK
•(f)   ------------------------------------------------R
•(a,z) VEPKSCDKTHTCPPCAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV
•(f)   --------------------------------------------------
•(a,z) DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDW
•(f)   --------------------------------------------------
•(a,z) LNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSPREPQVYT
•(f)   --------------------------------------------------
•(a,z) LPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD
•(f)   -----E-M----------------------------------------
•(a,z) SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK*
•(f)   --------------------------------------------------
```

(a, z)（配列番号１１５）
(f)（配列番号１１６）

【０３８３】
実施例２６：親クローンＭ９０－Ｆ１１の生殖系列化、リフォーマット、及び親和性成

熟

ＩｇＧのアロタイプ変異を図３０に示し、ＡＺからＦアロタイプへの３つのアミノ酸変化（太字で強調）を導入し、軽鎖における生殖系列化の一部として既に１０個のアミノ酸変化を有する生殖系列化Ｍ９０－Ｆ１１　ＩｇＧに導入した。

【０３８４】

生殖系としての親クローンＭ９０－Ｆ１１は、軽鎖に１０個のアミノ酸変化を有し、リード最適化の一部として生殖系列化クローンを重鎖Ｆｃ領域でＦアロタイプの配列を有するＩｇＧにリフォーマットされた。合計して、親Ｍ９０－Ｆ１１と比べて１３個のアミノ酸変化が存在し、リフォーマットされたクローンはＣＨＯ細胞株における発現に対して最適化されたヌクレオチド配列であった。ヌクレオチド配列／Ｇｅｎｅａｒｔ最適化クローンにＤＸ－２５００という名称を与え、これは安定なプールを作製するために用いられた。親Ｍ９０－Ｆ１１、生殖系列化Ｍ９０－Ｆ１１（ＧＬ）、及びＤＸ－２５００は、Ｂｉａｃｏｒｅ及びＦＡＣＳによりインビトロで特徴付けされ、結合及びブロッキング能力を評価した。

【０３８５】

表１４及び１５は、高度に精製された親、生殖系列化、且つリフォーマットされたＩｇＧと比べたＢｉａｃｏｒｅ及びＦＡＣＳの結果を含む。

【表２２】

表１４：Ｂｉａｃｏｒｅ分析：チップ上に固定化されたｈＦｃＲｎ及びＩｇＧをチップ上に流し、ＦＡＣＳ分析した（IC_{50}）

拮抗性抗ＦｃＲｎ抗体データ	biacore	biacore	biacore	biacore	biacore	biacore	FACS（ブロッキング）
	IgG	IgG	IgG	IgG	IgG	IgG	IgG
	hFcRn	hFcRn	hFcRn	hFcRn	hFcRn	hFcRn	hFcRn（細胞）
クローン番号	K_{on} @pH 6	K_{off} @pH 6	K_D @pH 6	K_{on} @pH 7.4	K_{off} @pH 7.4	K_D @pH 7.4	IC50 nM @ pH 6
532A-M0090-F11	2.13E+06	2.52E-04	1.18E-10	9.09E+05	7.02E-04	7.72E-10	0.43
532A-M0090-F11 （生殖系列化ＬＣ変	4.45E+06	7.64E-04	1.72E-10	9.96E+05	7.76E-04	7.79E-10	0.38
DX-2500（生殖系列化ＬＣ及びアロタイプHC変	2.11E+06	3.36E-04	1.60E-10	1.26E+06	3.38E-04	2.68E-10	0.55

【表２３】

表１５：Ｂｉａｃｏｒｅ分析：チップ上に固定化されたＩｇＧ及びｈＦｃＲｎをチップ上に流した。

拮抗性抗ＦｃＲｎ抗体データ	biacore	biacore	biacore	biacore	biacore	biacore
	IgG	IgG	IgG	IgG	IgG	IgG
	hFcRn	hFcRn	hFcRn	hFcRn	hFcRn	hFcRn
クローン番号	K_{on} @pH 6	K_{off} @pH 6	K_D @pH 6	K_{on} @pH 7.4	K_{off} @pH 7.4	K_D @pH 7.4
532A-M0090-F11	3.03E+05	3.12E-03	1.03E-08	1.81E+05	3.73E-03	2.05E-08
532A-M0090-F11 （生殖系列化ＬＣ変	5.74E+05	1.72E-02	2.99E-08	4.33E+05	1.52E-02	3.52E-08
DX-2500（生殖系列化ＬＣ及びアロタイプHC変	6.42E+05	1.77E-02	2.76E-08	3.72E+05	7.52E-02	2.02E-08

【０３８６】

抗ＦｃＲｎモノクローナル抗体を用いた以前の経験は、ｐＨ７．４におけるK_{off}が抗体のインビボ有効性にとって非常に重要であり、抗体がチップ上に固定化され、標的ｈＦｃＲｎがチップ上に流されたとき、ｐＨ６及び７．４の両方において生殖系列化及びＤＸ－２５００抗体についてK_{off}が非常に迅速であったことが、ｂｉａｃｏｒｅ分析中に明らかになった。生殖系列化Ｍ９０－Ｆ１１を親和性成熟させ、ＤＸ－２５００よりも改善されたＫｏｆｆ値を有するクローンを選択することを決定した。

【０３８７】

並列アプローチを用いて生殖系列化Ｍ９０－Ｆ１１を親和性成熟させた。３つの異なるライブラリ（ＬＣをシャッフルした、ＣＤＲ１及び２並びにＣＤＲ３のライブラリ）を構築し、それぞれ図２６に示す。親和性成熟したリードを選択した後の更なる配列の最適化を避けるために生殖系列化軽鎖を用いてライブラリ２及び３を構築した。

【０３８８】
選択プロトコル
可溶性Ｆａｂ（ｓＦａｂ）を、Ｆａｂ断片をディスプレイする親和性成熟したＭ９０－Ｆ１１ファージミドディスプレイライブラリから同定した。３つの異なる親和性成熟したライブラリを用いて、可溶性ヒト（ｓｈＦｃＲｎ）細胞及びヒトＦｃＲｎタンパク質を発現する２９３Ｃ１１細胞を用いて２つの異なる選択を実施した。また以下に概説するのと同じ溶出ストラテジを用いて、細胞及びタンパク質標的の組み合わせを用いて更なる選択を実施した。
ｉ）ビオチン化ｓｈＦｃＲｎに対する選択：ストレプトアビジンビーズ上での消失を用いて、ビオチン化ｓｈＦｃＲｎに対する選択を２ラウンド実施した。ファージミドを酸性結合バッファ（ｐＨ６）中で標的に結合させ、次いでｐＨ７．４のバッファ中の親Ｍ９０－Ｆ１１　ＩｇＧで溶出した。競合溶出／洗浄後、残りの結合ファージを全て、細胞の直接ビーズ感染（ｄｉｒｅｃｔ　ｂｅａｄ　ｉｎｆｅｃｔｉｏｎ）により溶出した。溶出したファージのアウトプットを選択の次のラウンドのインプットとして用いた。ラウンド２のアウトプットを、ｈＦｃＲｎでトランスフェクトされた細胞に対する交互ラウンド３選択で用い、つづいで同じ溶出ストラテジを用いるビオチン化ｓｈＦｃＲｎを用いる第４ラウンド選択で用いた。
ｉｉ）ｈＦｃＲｎ発現細胞に対する選択：ｈＦｃＲｎでトランスフェクトされた細胞に対する選択を２ラウンド実施した。ファージミドを４℃で酸性結合バッファ（ｐＨ６）中で細胞に結合させ、次いでｐＨ７．４のバッファ中の親Ｍ９０－Ｆ１１で溶出した。競合溶出／洗浄後、残りの結合ファージを全て、磁気ストレプトアビジンビーズによる細胞溶解とその後の細菌感染により溶出した。溶出したファージのアウトプットを選択の次のラウンドのインプットとして用いた。（ｉ）に記載したようにビオチン化ｓｈＦｃＲｎに対する選択を更に２ラウンド実施した。
【０３８９】
ＦｃＲｎのＦａｂ阻害剤のＥＬＩＳＡスクリーニング
ｈＦｃＲｎ結合剤を同定するために、ファージＥＬＩＳＡにおけるビオチン化ｓｈＦｃＲｎに対する各選択肢（ライブラリ当たり４）からのラウンド３及びラウンド４のアウトプットの一次スクリーニングをｐＨ６及び７．４で実施した。約１１５２の、ファージミド上の一次ＥＬＩＳＡ陽性Ｆａｂをスクリーニングし、ＤＮＡの配列を決定した。
【０３９０】
ｈＦｃＲｎに対するｐＨ非依存性結合剤であった３つの親和性成熟したライブラリ（軽鎖シャッフルライブラリから１６、ＣＤＲ１及び２ライブラリから４６、並びにＣＤＲ３ライブラリから１１６）から１７８の独自のファージミドをスクリーニングし、ｓＦａｂとして発現させるためにサブクローニングした。
【０３９１】
ＬＣライブラリからスクリーニングした１６ファージミドクローンのうち１５個は、親Ｍ９０－Ｆ１１と同じＣＤＲを有し、これは選択及びスクリーニングストラテジが親クローンを富化させる方向に片寄っていることを示唆する。親和性成熟したＳｏｌ　ＦＡＢクローン（約１６５）をハイスループットＳＰＲ分析に供し、ｐＨ７．４のｏｆｆ－ｒａｔｅ及びｐＨ６のK_D値によりランク付けした結果、ＣＤＲ３ライブラリから２１の親和性成熟したクローン、ＣＤＲ１及び２ライブラリから１つのクローンが生殖系列化Ｍ９０－Ｆ１１より優れていた。ハイスループットＳＰＲスクリーニングデータに基づいて、ＣＤＲ１及び２ライブラリ由来の親和性成熟したＭ０１５９－Ｃ０９を、ＣＤＲ３ライブラリ由来の親和性成熟したＭ０１５７－Ｈ０４及びＭ０１５７－Ｅ０５のＨＶ　ＣＤＲ１及び２位置に交換した。構築した２つのハイブリッドクローンＭ０１７１－Ａ０１（Ｍ１７１－Ａ０１とも称される）及びＭ０１７１－Ａ０３（Ｍ１７１－Ａ０３とも称される）は、生殖系列化Ｍ９０－Ｆ１１　ＬＣ配列を有する完全な親和性成熟したＨＶ　ＣＤＲ１、２、及び４を有していた。
【０３９２】

合計で、スクリーニングされ、中規模精製され、反復ＳＰＲ分析によりランク付けされ（表１６）、ＦＡＣＳ分析を用いてＦｃ－ＦｃＲｎブロッキングアッセイにおいて拮抗性抗ＦｃＲｎ特性が確認されたｓＦＡＢクローン（親及び生殖系列化Ｍ９０－Ｆ１１、ＣＤＲ３ライブラリから１９、ＣＤＲ１及び２ライブラリから１、並びにハイブリッドクローン２）が２４個存在した。

【表２４】

表１６：上位２２の親和性成熟したｓｏｌ　ＦＡＢ結合速度、ランク付け，及びＨＶ－ＣＤＲ配列

第1 Mdmスケール－第2 SPR	pH 7.4			pH 6.0			生殖系列化M90-F11に対するKd向上倍率		pH 7.4	CDR配列の差		
マスタークローン番号	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (M)	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (M)	pH 7.4	pH6.0	順位	HV-CDR1	HV-CDR2	HV-CDR3
532A-M0171-A03	1.3E+05	1.7E-06	1.3E-10	1.3E+05	1.8E-04	1.4E-09	41.0	41.5	1	VYAMG	SIGSSGGPTKYADSVKG	LSIRELV
532A-M0171-A01	1.6E+05	2.3E-04	1.5E-09	1.6E+05	2.9E-04	1.9E-09	19.2	25.7	3	VYAMG	SIGSSGGPTKYADSVKG	LSIVDSY
532A-M0161-B04	1.7E+05	2.2E-04	1.3E-09	1.6E+05	1.9E-04	1.2E-09	20.5	39.6	2	EYAMG	SIGSSGGQTKYADSVKG	LAIGDSY
532A-M0157-F09	1.7E+05	2.8E-04	1.6E-09	1.8E+05	2.9E-04	1.6E-09	16.2	26.0	5	EYAMG	SIGSSGGQTKYADSVKG	LSIRELI
532A-M0157-B08	1.6E+05	3.5E-04	2.2E-09	1.6E+05	2.9E-04	1.8E-09	12.7	25.4	8	EYAMG	SIGSSGGQTKYADSVKG	LSIRELS
532A-M0157-H04	1.7E+05	3.6E-04	2.2E-09	1.7E+05	3.0E-04	1.8E-09	12.4	25.0	10	EYAMG	SIGSSGGQTKYADSVKG	LSIRELV
532A-M0159-A07	1.9E+05	2.5E-04	1.4E-09	1.8E+05	2.6E-04	1.4E-09	17.7	29.1	4	EYAMG	SIGSSGGQTKYADSVKG	LSLGDSY
532A-M0158-H06	2.1E+05	3.5E-04	1.7E-09	2.1E+05	3.1E-04	1.5E-09	12.9	24.1	7	EYAMG	SIGSSGGQTKYADSVKG	LSIVDSF
532A-M0157-A12	1.8E+05	4.9E-04	2.8E-09	1.5E+05	5.1E-04	3.3E-09	9.1	14.7	16	EYAMG	SIGSSGGQTKYADSVKG	LSIRELD
532A-M0158-C04	1.5E+05	4.2E-04	2.7E-09	1.5E+05	4.5E-04	3.0E-09	10.7	16.7	12	EYAMG	SIGSSGGQTKYADSVKG	LSIRELS
532A-M0157-C05	1.8E+05	4.7E-04	2.6E-09	2.0E+05	4.2E-04	2.1E-09	9.5	17.9	15	EYAMG	SIGSSGGQTKYADSVKG	LSIRELS
532A-M0155-F05	1.8E+05	5.4E-04	3.1E-09	1.9E+05	4.6E-04	2.5E-09	8.3	16.3	19	EYAMG	SIGSSGGQTKYADSVKG	LSIDDSY
532A-M0158-A03	1.4E+05	3.5E-04	2.5E-09	1.4E+05	4.8E-04	3.4E-09	12.9	15.6	6	EYAMG	SIGSSGGQTKYADSVKG	LSIVELD
532A-M0159-A10	1.6E+05	4.2E-04	2.6E-09	1.6E+05	4.0E-04	2.5E-09	10.6	18.6	13	EYAMG	SIGSSGGQTKYADSVKG	LSIRELF
532A-M0157-D11	1.7E+05	4.6E-04	2.6E-09	1.7E+05	3.9E-04	2.3E-09	9.8	19.1	14	EYAMG	SIGSSGGQTKYADSVKG	LSIRDSY
532A-M0155-D12	1.4E+05	5.1E-04	3.6E-09	1.5E+05	4.5E-04	3.0E-09	8.8	16.6	18	EYAMG	SIGSSGGQTKYADSVKG	LSIDDFY
532A-M0157-D04	1.9E+05	5.1E-04	2.7E-09	1.8E+05	4.4E-04	2.5E-09	8.9	17.0	17	EYAMG	SIGSSGGQTKYADSVKG	LSIRELF
532A-M0155-G01	1.6E+05	5.7E-04	3.5E-09	1.7E+05	5.1E-04	2.9E-09	7.9	14.6	20	EYAMG	SIGSSGGQTKYADSVKG	LSIRELY
532A-M0157-E05	1.8E+05	3.6E-04	2.0E-09	1.8E+05	3.1E-04	1.7E-09	12.6	24.1	9	EYAMG	SIGSSGGQTKYADSVKG	LSIVDSY
532A-M0159-C09	1.4E+05	9.1E-04	6.6E-09	1.3E+05	7.9E-04	6.0E-09	4.9	9.5	22	VYAMG	SIGSSGGPTKYADSVKG	LSTGELY
532A-M0161-G06	1.2E+05	8.1E-04	6.9E-09	1.7E+05	4.2E-04	2.6E-09	5.6	17.7	21	EYAMG	SIGSSGGQTKYADSVKG	LSIRELH
親M90-F11	1.4E+05	1.9E-03	1.3E-08	1.4E+05	1.6E-03	1.2E-08	2.3	4.7	23	EYAMG	SIGSSGGQTKYADSVKG	LSTGELY
532A-M0155-H05	2.9E+05	6.1E-03	2.1E-08	2.0E+06	3.4E-02	1.7E-08	0.7	0.2	26	EYAMG	SIGSSGGQTKYADSVKG	LSTGALS
生殖系列化M90-F1	1.9E+05	4.5E-03	2.4E-08	6.5E+05	7.5E-03	1.2E-08	1.0	1.0	25	EYAMG	SIGSSGGQTKYADSVKG	LSTGELY

【表２５】

表１６Ａ：表１６に対応する配列

第1　Mdmスケール－第2　SPR	ＣＤＲ配列の差			配列番号
マスタークローン番号	HV-CDR1	HV-CDR2	HV-CDR3	
532A-M0171-A03	VYAMG	SIGSSGGPTKYADSVKG	LSIRELV	117
532A-M0171-A01	VYAMG	SIGSSGGPTKYADSVKG	LSIVDSY	118
532A-M0161-B04	EYAMG	SIGSSGGQTKYADSVKG	LAIGDSY	119
532A-M0157-F09	EYAMG	SIGSSGGQTKYADSVKG	LSIRELI	120
532A-M0157-B08	EYAMG	SIGSSGGQTKYADSVKG	LSIRELS	121
532A-M0157-H04	EYAMG	SIGSSGGQTKYADSVKG	LSIRELV	122
532A-M0159-A07	EYAMG	SIGSSGGQTKYADSVKG	LSLGDSY	123
532A-M0158-H06	EYAMG	SIGSSGGQTKYADSVKG	LSIVDSF	124
532A-M0157-A12	EYAMG	SIGSSGGQTKYADSVKG	LSIRELD	125
532A-M0158-C04	EYAMG	SIGSSGGQTKYADSVKG	LSIRELH	126
532A-M0157-C05	EYAMG	SIGSSGGQTKYADSVKG	LSIRELS	127
532A-M0155-F05	EYAMG	SIGSSGGQTKYADSVKG	LSIDDSY	128
532A-M0158-A03	EYAMG	SIGSSGGQTKYADSVKG	LSIVELD	129
532A-M0159-A10	EYAMG	SIGSSGGQTKYADSVKG	LSIRELF	130
532A-M0157-D11	EYAMG	SIGSSGGQTKYADSVKG	LSIRDSY	131
532A-M0155-D12	EYAMG	SIGSSGGQTKYADSVKG	LSIDDFY	132
532A-M0157-D04	EYAMG	SIGSSGGQTKYADSVKG	LSIRELF	133
532A-M0155-G01	EYAMG	SIGSSGGQTKYADSVKG	LSIRELY	134
532A-M0157-E05	EYAMG	SIGSSGGQTKYADSVKG	LSIVDSY	135
532A-M0159-C09	VYAMG	SIGSSGGPTKYADSVKG	LSTGELY	136
532A-M0161-G06	EYAMG	SIGSSGGQTKYADSVKG	LSIRELH	137
親Ｍ９０－Ｆ１１	EYAMG	SIGSSGGQTKYADSVKG	LSTGELY	138
532A-M0155-H05	EYAMG	SIGSSGGQTKYADSVKG	LSTGALS	139
生殖系列化Ｍ９０－Ｆ１	EYAMG	SIGSSGGQTKYADSVKG	LSTGELY	140

【０３９３】

２２個のｓＦＡＢクローン全てをＩｇＧにリフォーマットしたが、発現させ、精製し、ｐＨ６及び７．４でＦｌｅｘｃｈｉｐ分析に供したのは８個のＩｇＧだけであった。Ｆｌｅｘｃｈｉｐ　ＳＰＲ８５００のデータに基づいて、以下の４つの親和性成熟したＩｇＧクローンを、ｈＦｃＲｎトランスジェニックマウスにおいてインビトロ（Ｂｉａｃｏｒｅ分析）及びインビボで更に研究するために選択した。

【０３９４】

表１７Ａは、親又はＤＸ２５００クローンと比べて、４つの親和性成熟したＩｇＧのＨＶ－ＣＤＲ１、２、又は３におけるアミノ酸変化の総数を示す。

【表２６】

初期名称	LV-CDR1	LV-CDR2	LV-CDR3	HV-CDR1	HV-CDR2	HV-CDR3
親Ｍ９０－Ｆ１１	TGTGSDVGSYNLVS	GDSQRPS	CSYAGSGIYV	EYAMG	SIGSSGGQTKYADSVKG	LSTGELY
DX-2500	TGTGSDVGSYNLVS	GDSQRPS	CSYAGSGIYV	EYAMG	SIGSSGGQTKYADSVKG	LSTGELY
532A-M0171-A03	TGTGSDVGSYNLVS	GDSQRPS	CSYAGSGIYV	VYAMG	SIGSSGGPTKYADSVKG	LSIRELV
532A-M0171-A01	TGTGSDVGSYNLVS	GDSQRPS	CSYAGSGIYV	VYAMG	SIGSSGGPTKYADSVKG	LSIVDSY
532A-M0159-A07	TGTGSDVGSYNLVS	GDSQRPS	CSYAGSGIYV	EYAMG	SIGSSGGQTKYADSVKG	LSLGDSY
532A-M0161-B04	TGTGSDVGSYNLVS	GDSQRPS	CSYAGSGIYV	EYAMG	SIGSSGGQTKYADSVKG	LAIGDSY

＊１０個の生殖系変化、３つのＡＺからＦへのアロタイプ変換による変化＋ＨＶ－ＣＤＲ突然変異

【表２７】

表１７Ａ１：表１７Ａに対応する配列番号

配列番号	LV-CDR1	LV-CDR2	LV-CDR3	HV-CDR1	HV-CDR2	HV-CDR3
Parent M90-F11	141	142	143	144	145	146
Dx-2500	147	148	149	150	151	152
532A-M0171-A03	153	154	155	156	157	158
532A-M0171-A01	159	160	161	162	163	164
532A-M0159A07	165	166	167	168	169	170
532A-M0161B04	171	172	173	174	175	176

【０３９５】

チップ上にＩｇＧを固定化し、ｈＦｃＲｎをその上に流すことによりｐＨ７．４で行われた４つの親和性成熟したクローンのＢｉａｃｏｒｅ分析、及びその生データ、及びＤＸ－２５００及び親Ｍ９０－Ｆ１１クローンに対する向上倍率（K_{off}及びK_D）を表１７Ｂに示す。

【表２８】

表１７Ｂ：上位４つの親和性成熟したＩｇＧ結合速度、ＤＸ－２５００及び親Ｍ９０－Ｆ１１に対する向上倍率

pH7．4で行われたBiacoreデータの比較				Ｋｏｆｆ向上倍率		K_D向上倍率	
クローン番号＋ＳＰＲ法		Kd s-1	KD (M)	DX2500	M90-F11	DX2500	M90-F11
M171-A01 IgG Biacore	1.26E+05	1.92E-04	1.52E-09	103	16	58	12
M171-A03 IgG Biacore	1.42E+05	2.84E-04	2.00E-09	69	11	44	9
M159-A07 IgG Biacore	1.27E+05	6.88E-04	5.40E-09	29	4	16	3
M161-B04 IgG Biacore	1.21E+05	8.57E-04	7.06E-09	23	3	12	3
M90-F11 parental Biacore	1.61E+05	2.99E-03	1.86E-08	7	1	5	1
DX-2500 Biacore	2.24E+05	1.97E-02	8.79E-08	1	0.15	1	0.21

【０３９６】

ｈＦｃＲｎトランスジェニックマウスにおける親和性成熟した抗ＦｃＲｎ　ＩｇＧ及びｓｏｌ　ＦＡＢを試験するために用いたプロトコルは以下の通りである：

・６群（１群プラセボ、４群ＩｇＧ、１群Ｆａｂ、４匹のマウス／群）

・ｔ＝０時間において４９５ｍｇ／ｋｇ　ｆＩｇＧ＋５ｍｇ／ｋｇ　ビオチン－ｈＩｇ

Ｇを静脈内投与
・ｔ＝２４時間において５又は２０ｍｇ／ｋｇのＡｂ（１．６７又は６．６７ｍｇ／ｋｇのＦａｂ）を静脈内投与
・Ｍ１７１－Ａ０１－ＩｇＧ、
・Ｍ１７１－Ａ０３－ＩｇＧ、
・Ｍ１５９－Ａ０７－ＩｇＧ、
・Ｍ１６１－Ｂ０４－ＩｇＧ、又は
・３２Ａ－Ｍ１７１－Ａ０１－Ｆａｂ
・２４（投与前）、３０、４８、７２、９６、１２０、及び１６８時間で血液試料採取
・ストレプトアビジン捕捉／Ｆｃ検出ＥＬＩＳＡを用いてビオチン－ｈＩｇＧ血清濃度を定量、及びＦａｂ捕捉／Ｆｃ検出ＥＬＩＳＡを用いて総ＩｇＧを定量

【０３９７】
以下の図２７及び２８、並びに表１８に示すインビボデータに基づいて、Ｍ０１６１－Ｂ０４及びＭ０１７１－Ａ０１を選択して、Ｔｇ３２ＢマウスにおいてＭ９０－Ｆ１１及びＤＸ－２５００と付き合わせて試験した。

【表２９】

表１８：Ｔｇ３２ＢマウスにおけるｈＩｇＧ異化作用の加速における親和性成熟したＩｇＧ及びｓｏｌＦＡＢの効果：５及び２０ｍｇ／ｋｇ静脈内投与（ビオチンＩｇＧ及び総ＩｇＧ）

１６８時間における血清中に残存するビオチン－ＩｇＧのＰＢＳ対照に対する％			１６８時間における血清中に残存する総ＩｇＧのＰＢＳ対照に対する％	
ＩｇＧ名称	5mg/kg (1.7mg/kg sFAb)	20 mg/kg (6.7mg/kg sFAb)	5mg/kg (1.7mg/kg sFAb)	20 mg/kg (6.7mg/kg sFAb)
親Ｍ９０－Ｆ１１	77	63	NA	NA
532A- M0171-A01	124	45	96	40
532A- M0171-A03	128	66	84	44
532A- M0159-A07	131	59	96	40
532A- M0161-B04	100	41	76	24
S32A-M171-A03-sFAb	152	103	140	108

【０３９８】
ｈＩｇＧの異化作用に対する抗ＦｃＲｎ抗体の効果
抗ＦｃＲｎ抗体を用いたインビボ研究は、循環ＩｇＧの枯渇において有効性を示した。用量依存的枯渇は、マウス及びサルの２種、並びに静脈内及び皮下の２つの投与経路で示された。サルでは、循環ＩｇＡ、ＩｇＭ、又は血清アルブミンにおけるいかなる変化も、ＩｇＧの低下を伴わなかった。

【０３９９】
Ａ）マウスにおけるｈＩｇＧの異化作用に対する抗ＦｃＲｎの効果
Ｔｇ３２Ｂマウス（マウスＦｃＲｎ及びマウスβ２マイクログロブリンノックアウト）／ノックイン（ヒトＦｃＲｎ及びヒトβ２マイクログロブリンノックイン）に、０日目にヒトＩｇＧを投与した。１日目及び７日目に、マウスに異なる用量の抗ＦｃＲｎ抗体Ｍ１６１－Ｂ０４（ＤＸ－２５０４）及びＭ１７１－Ａ０１を静脈内投与した。マウスの血清中のヒトＩｇＧの濃度を１４日間にわたって測定した。図３１に示すように、ヒトＩｇＧの濃度は各抗体を投与した１４日間にわたって著しく低下した。ＩｇＧの減少は、投与された抗ＦｃＲｎ抗体の濃度に依存していた。

【０４００】
Ｂ）皮下投与によるｈＩｇＧの異化作用に対する抗ＦｃＲｎ抗体の効果
Ｔｇ３２Ｂマウス（マウスＦｃＲｎ及びマウスβ２マイクログロブリンノックアウト）／ノックイン（ヒトＦｃＲｎ及びヒトβ２マイクログロブリンノックイン）に、０日目にヒトＩｇＧを投与した。１日目及び７日目に、マウスに異なる用量の抗ＦｃＲｎ抗体Ｍ１６１－Ｂ０４（ＤＸ－２５０４）を皮下投与した。マウスの血清中のヒトＩｇＧの濃度を１４日間にわたって測定した。図３２に示すように、ヒトＩｇＧの濃度は各抗体を投与した１４日間にわたって著しく低下した。ＩｇＧの減少は、投与された抗ＦｃＲｎ抗体の濃

度に依存していた。皮下投与の有効性は静脈内投与に類似している。

【０４０１】

Ｃ）カニクイザルにおけるｈＩｇＧの異化作用に対する抗ＦｃＲｎ抗体の効果

カニクイザルに異なる用量の抗ＦｃＲｎ抗体Ｍ１６１－Ｂ０４（ＤＸ－２５０４）及びビヒクル対照を投与した。図３３は、投与の時間（図３３Ａ）及び対照の結果（図３３Ｂ）を示す。サルの血清中のＩｇＧ濃度を１４日間にわたって測定した。図３４～３５（個々のサル）及び図３６（群の平均データ）に示すように、ＩｇＧの濃度は各抗体を投与した１４日間にわたって著しく低下した。ＩｇＧの低下は投与された抗ＦｃＲｎ抗体の濃度に依存していた。皮下投与の有効性は静脈内投与に類似している。図３７Ａ～図３７Ｃは、ＩｇＡ、ＩｇＭ、及び血清アルブミンの血清濃度が抗ＦｃＲｎ抗体の投与に影響を受けないことを示す。

【０４０２】

本願全体にわたって引用された及び以下に列挙される参考文献、発行済特許、公開又は未公開特許出願を含む全ての引用された参考文献の内容は、全文を参照することにより本明細書に組み込まれる。矛盾する場合、本明細書における任意の定義を含め、本出願が優先する。

【０４０３】

本発明の多くの実施形態が記載された。しかしながら、本発明の趣旨及び範囲を逸脱することなく種々の修正を行い得ることが理解されよう。従って他の実施形態の以下の特許請求の範囲の範囲内である。

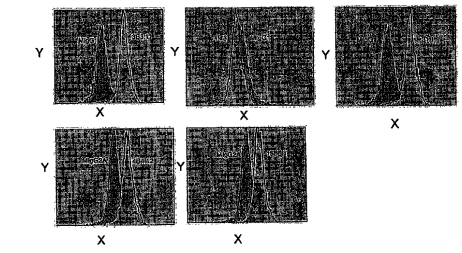
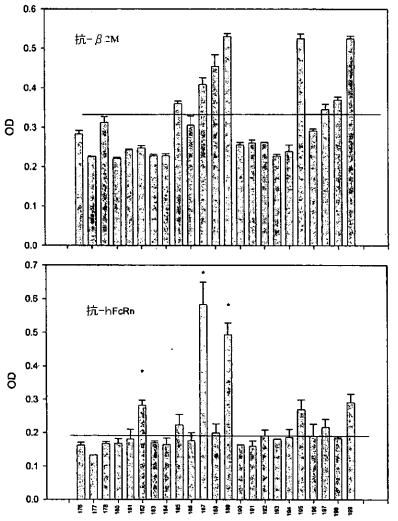
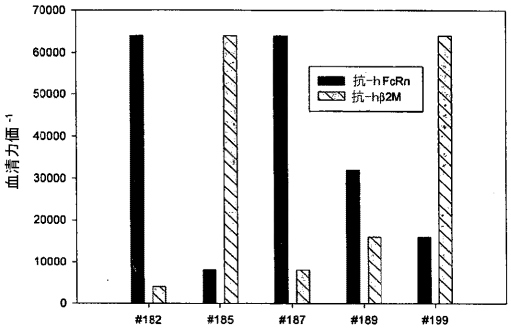


Figure 9

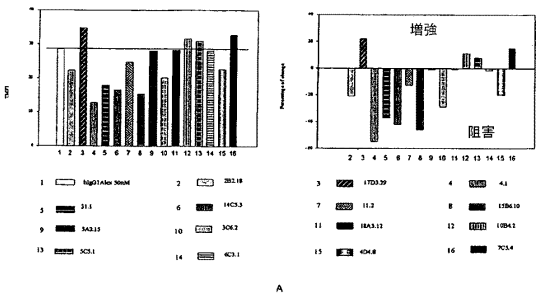
【図１】



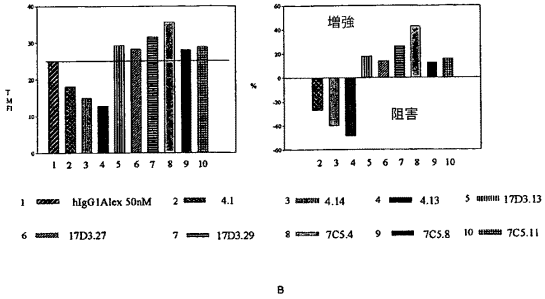
【図２】



【図３】

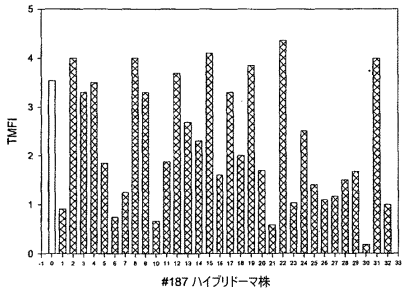


A



B

【図４】



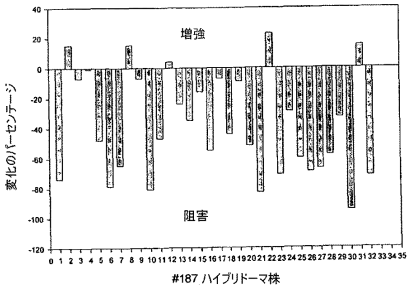
0: Alexa fluor 488 標識 hIgG1 のみを収容しているチューブの TMFI

1: 陽性対照 15B6.1（非 182融合体の抗hFcRn ブロッキングmAB）

2-4, 6-7, 9, 12-13, 15-17, 19-20, 22-28, 31-32: 抗 hFcRn mAB 上清

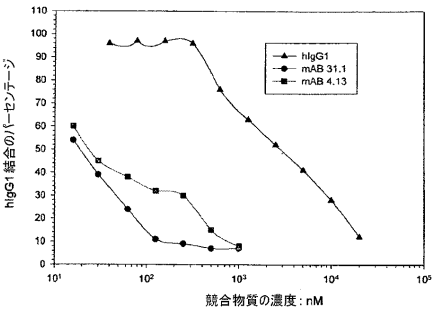
5, 8, 10, 11, 14, 18, 21, 29 及び 30: 抗 human β-2M mAB 上清

A

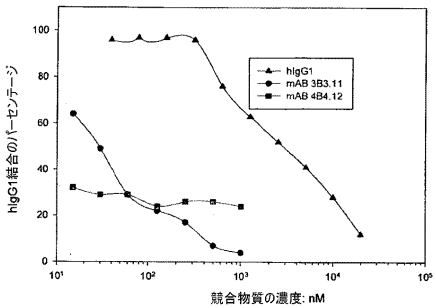


B

【図５】

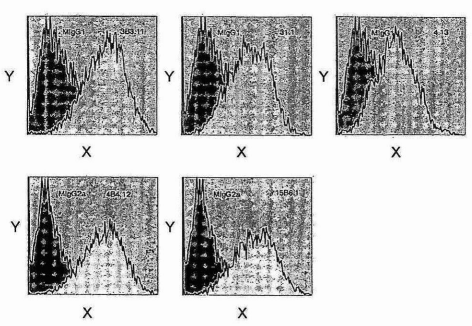


A



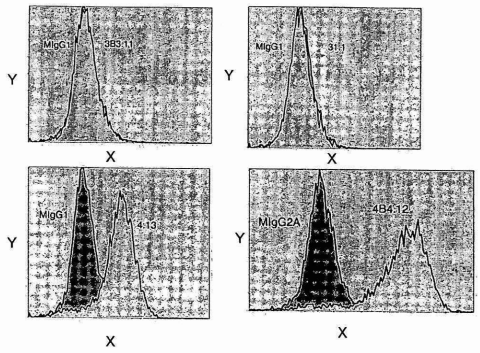
B

【図６】



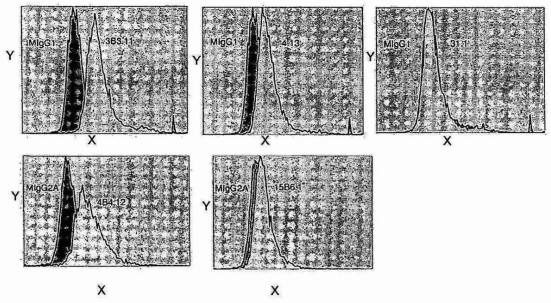
Xは蛍光強度
Yは細胞数

【図７】



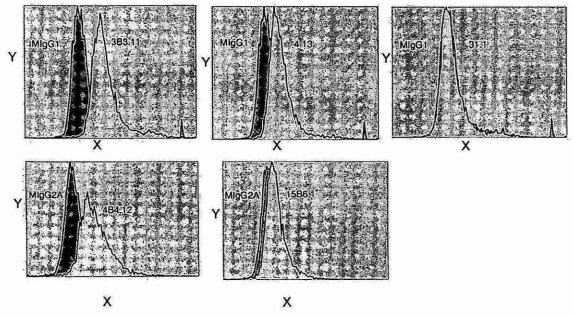
Xは蛍光強度
Yは細胞数

【図８】



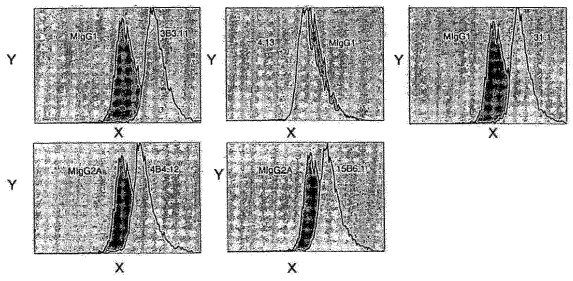
Xは蛍光強度
Yは細胞数

【図９】



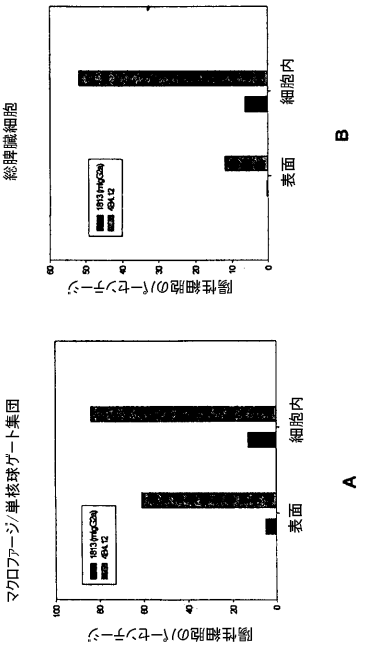
Xは蛍光強度
Yは細胞数

【図１０】

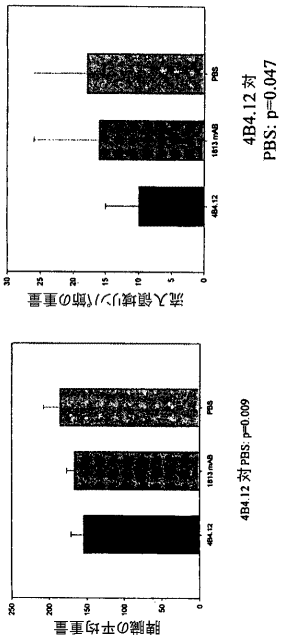


Xは蛍光強度
Yは細胞数

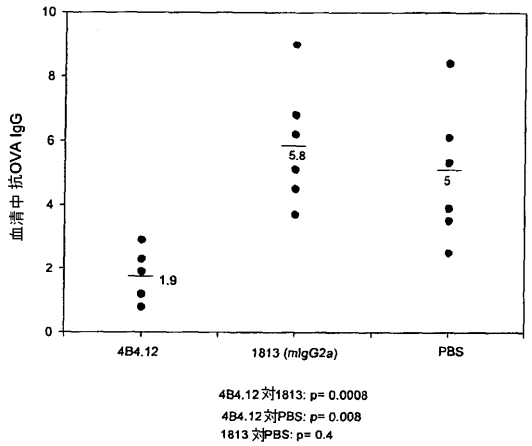
【図１１】



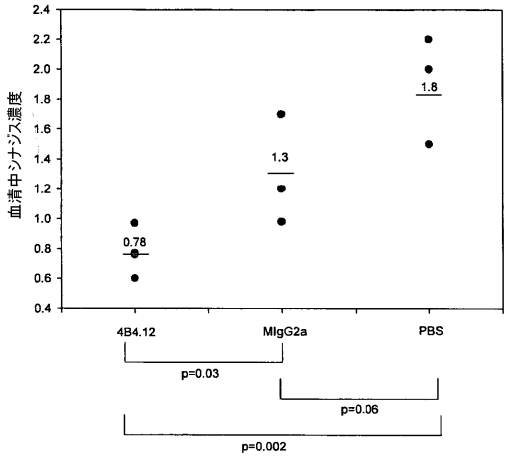
【図１２】



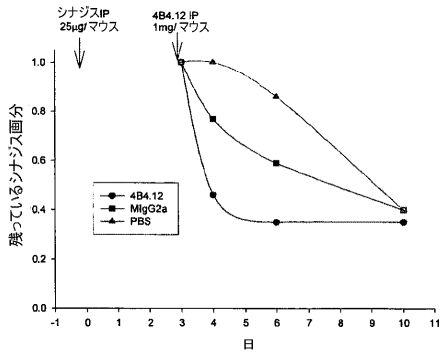
【図１３】



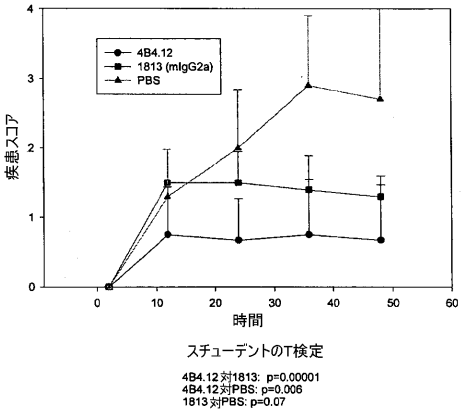
【図１４】



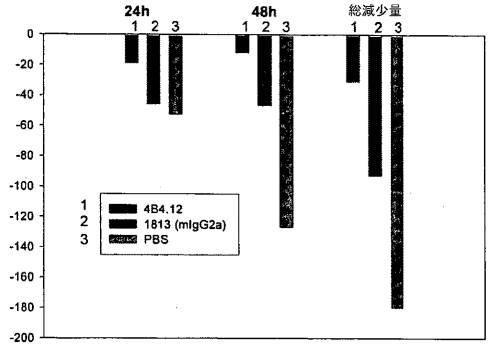
【図１５】



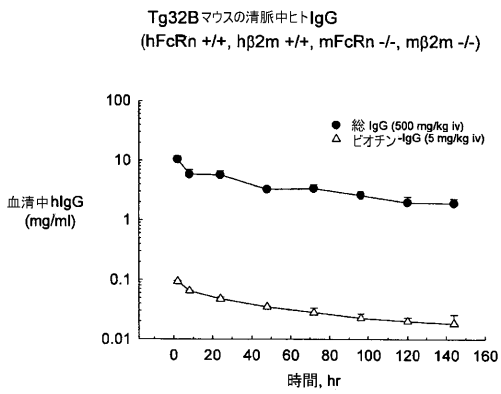
【図１６】



【図１７】

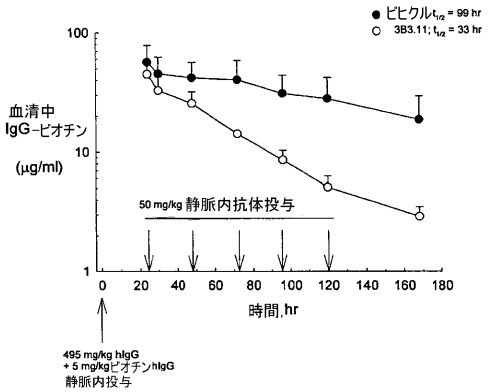


【図１８】

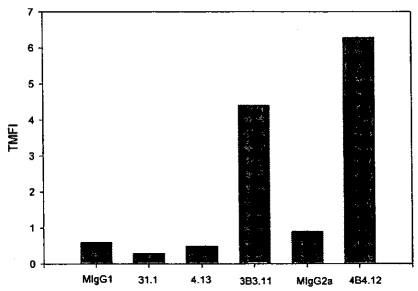


	$t_{1/2}$ (時間)	Cmax (mg/ml)	AUC (時間* mg/ml)
総 IgG	78	10.41	739
ビオチンIgG	87	0.093	7.19

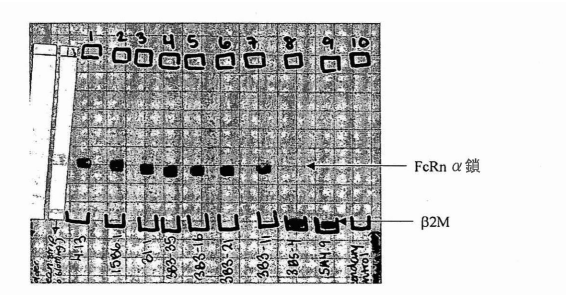
【図１９】



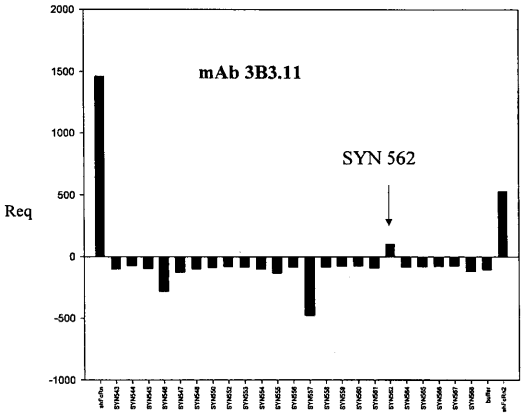
【図２０】



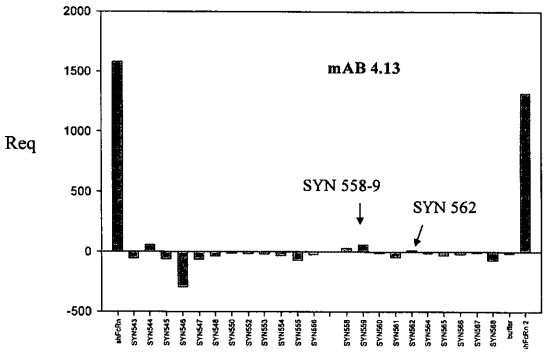
【図２１】



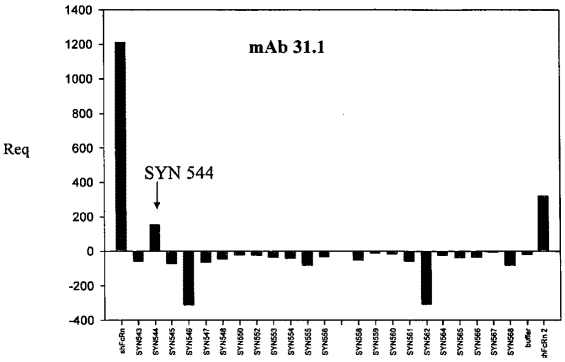
【図２２Ａ】



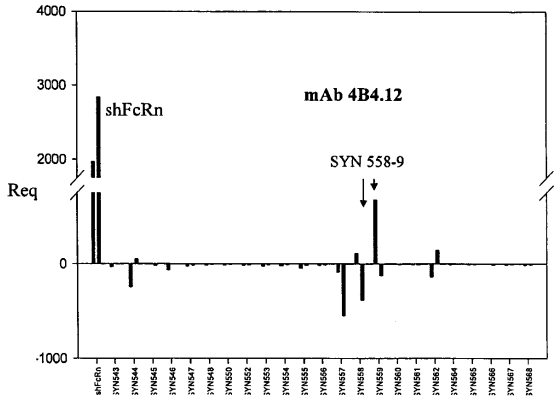
【図２２Ｂ】



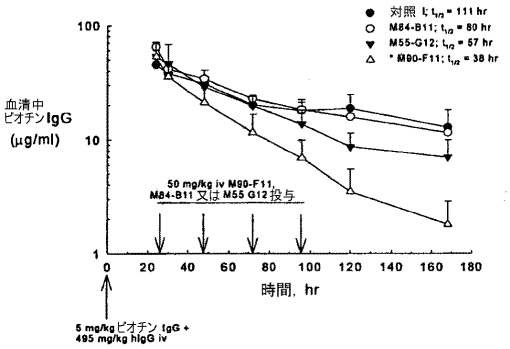
【図２２Ｃ】



【図２２Ｄ】

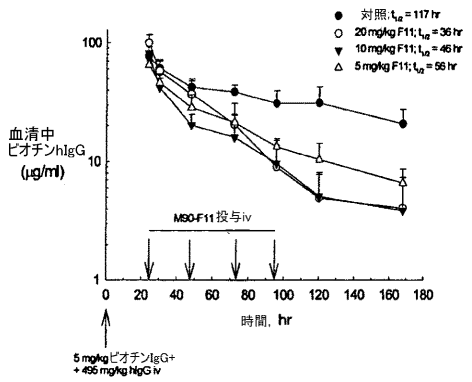


【図２３】

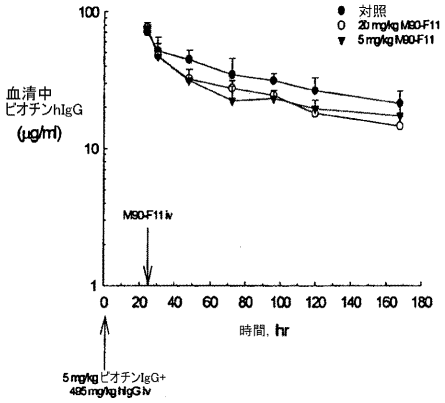


* M90-F11データは別の実験から得た

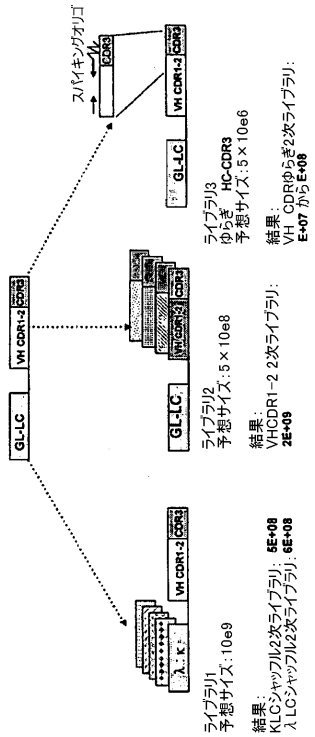
【図２４】



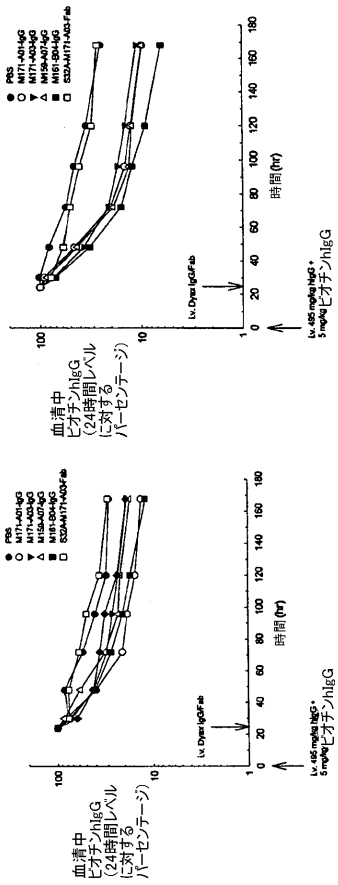
【図２５】



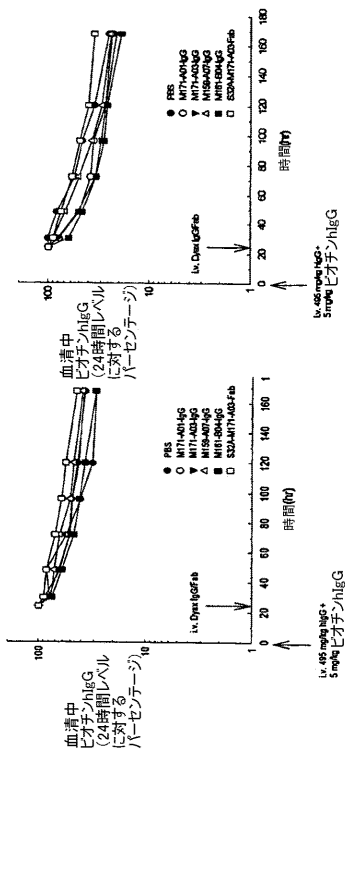
【図２６】



【図２７】



【図２８】



【図２９】

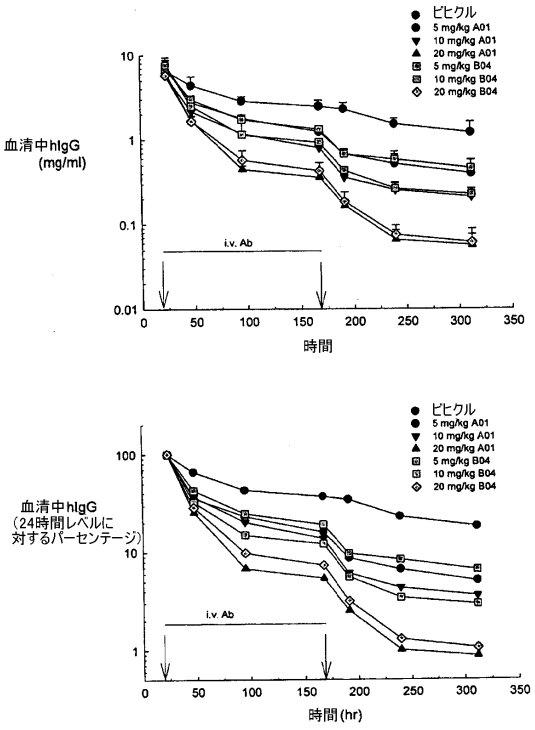
```
532A-M0090-F11 (532A-R0004-E04)
LIGHT: V:VL2_2b2; J:JL1

                        FR1-L              CDR1-L            FR2-L       CDR2-L
532A-M0090-F11: QSVLTQPASVSGSPGQSITISC TGTGSDVGSYNLVS WYQKYPGKAPKLIIY GDSQRPS
生殖系列:       QSALTQPASVSGSPGQSITISC TGTSSDVGSYNLVS WYQQHPGKAPKLMIY EVSKRPS

                        FR3-L                        CDR3-L     FR4-L
532A-M0090-F11: GLSSRFSGSKSGNSASLTISGLQAEDEADYYCC SYAGSGIYYV FGSGTKVTVL
生殖系列:       GVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCC SYAGSSTFYV FGTGTKVTVL

532A-M0090-F11 (配列番号 : 177);
生殖系列 (配列番号 178)
--------------------------------------------------------------------------------
--------
LC-lambda1

532A-M0090-F11-C
SPKANPTVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADGSPVKAGVETTKPSKQSNNKYAASSYL

生殖系列-C:
GPKANPTVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADGSPVKAGVETTKPSKQSNNKYAASSYL

532A-M0090-F11-C   SLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPAECS (配列番号 : 179)
生殖系列-C:        SLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS (配列番号 : 180)

--------------------------------------------
HEAVY: V:VH3-23; J:JH4

                         FR1-H                CDR1-H    FR2-H         CDR2-H
532A-M0090-F11: EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS EYAMG WVRQAPGKGLEWVS
SIGSSGGQTKY
生殖系列:       EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS SYAMS WVRQAPGKGLEWVS
AISGSGGSTYY

                              FR3-H                      CDR3-H    FR4-H
532A-M0090-F11: ADSVKG RFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR LSTGELY WGQGTLVTVSS
生殖系列:       ADSVKG RFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAK       Y WGQGTLVTVSS

532A-M0090-F11 (配列番号 : 111);
生殖系列 (配列番号 : 113)
```

【図３０】

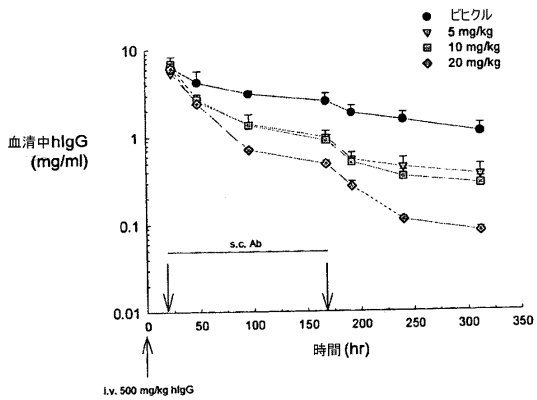
```
• (a,z) ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS
• (f)   ------------------------------------------------
• (a,z) GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKK
• (f)   ------------------------------------------------R
• (a,z) VEPKSCDKTHICPPCAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV
• (f)   ------------------------------------------------
• (a,z) DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDW
• (f)   ------------------------------------------------
• (a,z) LNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSPREPQVYT
• (f)   ------------------------------------------------
• (a,z) LPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD
• (f)   -----E-M--------------------------------------------
• (a,z) SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK*
• (f)   ------------------------------------------------
```

(a, z) (配列番号: 115)
(f) (配列番号: 116)

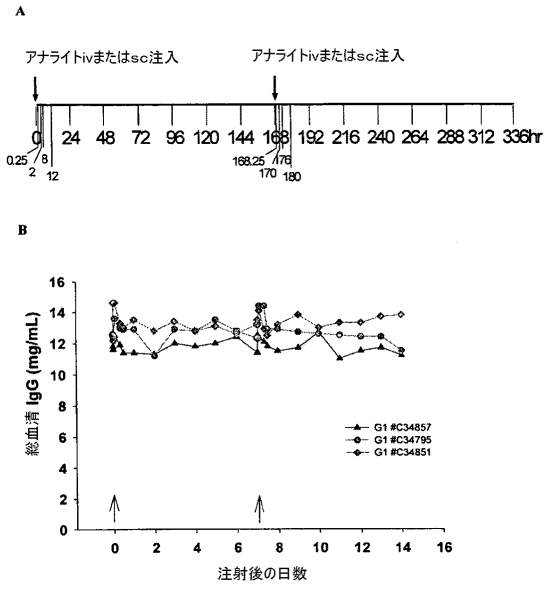
【図３１】



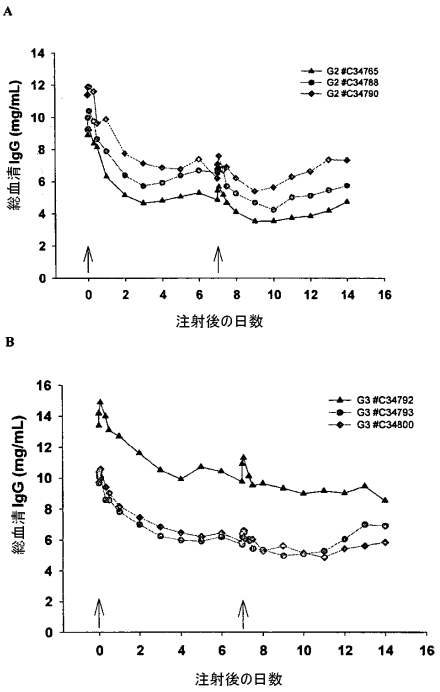
【図３２】



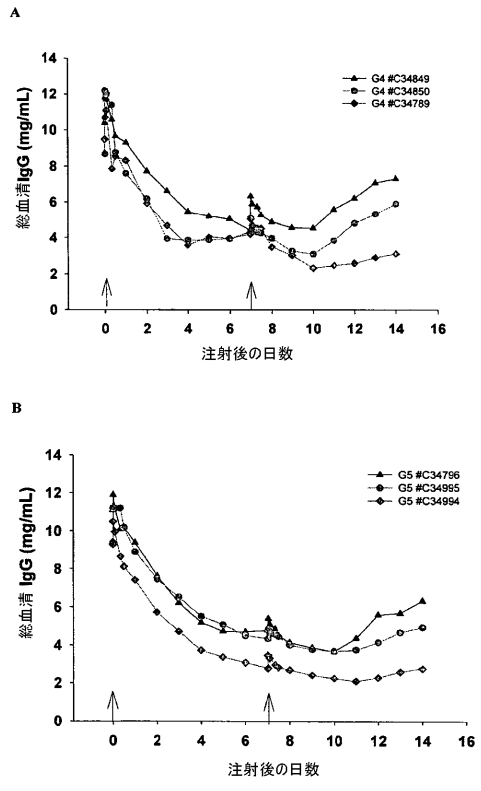
【図３３】



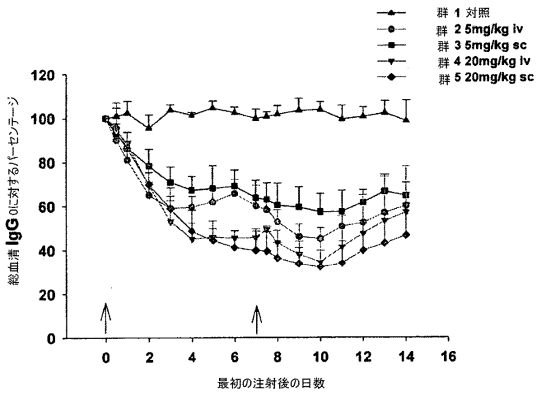
【図３４】



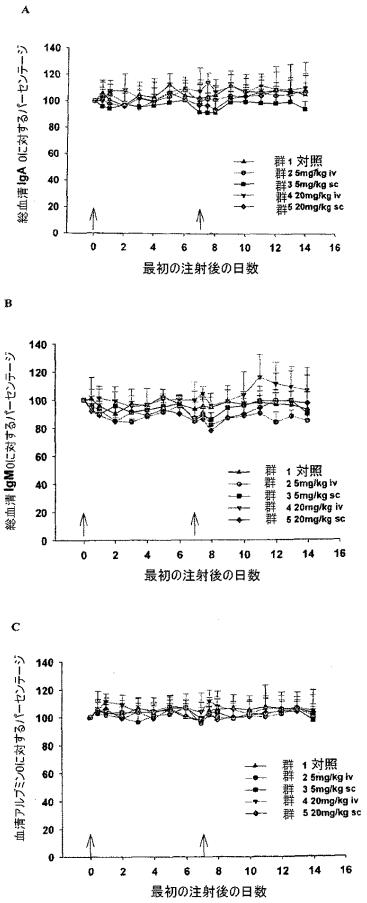
【図３５】



【図３６】



【図３７】



【図３８】

DX-2504 (532A-M0161-B04)

Light V gene = VL2_2b2; J gene = JL1

```
                FR1-L                CDR1-L          FR2-L          CDR2-L
生殖系列:  QSALTQPASVSGSPGQSITISC TGTSSDVGSYNLVS WYQQHPGKAPKLMIY EVSKRPS
DX-2504:   QSALTQPASVSGSPGQSITISC TGTGSDVGSYNLVS WYQQHPGKAPKLMIY GDSQRPS

                FR3-L                CDR3-L     FR4-L
生殖系列:  GVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYC CSYAGSSTYV FGTGTKVTVL
DX-2504:   GVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYC CSYAGSGIYV FGTGTKVTVL
```

生殖系列（配列番号: 181); DX-2504（配列番号: 182)

Heavy V gene = VH3-23; J gene = JH3

```
                FR1-H                        CDR1-H      FR2-H
CDR2-H
生殖系列   EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS SYAMS WVRQAPGKGLEWVS
AISGSGGSTYYADSVKG
DX-2504:   EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS EYAMG WVRQAPGKGLEWVS
SIGSSGGQTKYADSVKG

                FR3-H                        CDR3-H    FR4-H
生殖系列:    RFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAK [ ]AFDI WGQGTMVTVSS
DX-2504:     RFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR LAIGDSY WGQGTMVTVSS
```

生殖系列（配列番号 183); DX-2504（配列番号: 184)

Top Alignments against Germline sequences

```
DX-2504: QSALTQPASVSGSPGQSITISC TGTGSDVGSYNLVS WYQQHPGKAPKLMIY GDSQRPS
VL2_2b2: QSALTQPASVSGSPGQSITISC TGTSSDVGSYNLVS WYQQHPGKAPKLMIY EVSKRPS
VL2_2e2: QSALTQPRSVSGSPGQSVTISC TGTSSDVGGYNYVS WYQQHPGKAPKLMIY DVSKRPS
VL2_2a2: QSALTQPASVSGSPGQSITISC TGTSSDVGGYNYVS WYQQHPGKAPKLMIY EVSNRPS
VL2_2c:  QSALTQPPSASGSPGQSVTISC TGTSSDVGGYNYVS WYQQHPGKAPKLMIY EVSKRPS
VL2_2d:  QSALTQPPSVSGSPGQSVTISC TGTSSDVGSYNRVS WYQQPPGTAPKLMIY EVSNRPS

DX-2504: GVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYC CSYAGSGIYVV FGTGTKVTVL
VL2_2b2: GVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYC CSYAGSSTF
VL2_2e2: GVPDRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYC CSYAGSYTF
VL2_2a2: GVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYC SSYTSSSTL
VL2_2c:  GVPDRFSGSKSGNTASLTVSGLQAEDEADYYC SSYAGSNNF
VL2_2d:  GVPDRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYC SLYTSSSTF

DX-2504: 配列番号: 185; VL2_2b2: SEQ ID NO: 186; VL2_2e2: SEQ ID NO: 187;
VL2_2a2: 配列番号: 188; VL2_2c: SEQ ID NO: 189; VL2_2d: SEQ ID NO: 190;
```

【配列表】

0006106854000001.app

フロントページの続き

(51)Int.Cl.		FI		
A61P 5/14	*(2006.01)*	A61P	5/14	
A61P 9/00	*(2006.01)*	A61P	9/00	
A61P 13/12	*(2006.01)*	A61P	13/12	
A61P 17/00	*(2006.01)*	A61P	17/00	
A61P 19/02	*(2006.01)*	A61P	19/02	
A61P 21/00	*(2006.01)*	A61P	21/00	
A61P 25/00	*(2006.01)*	A61P	25/00	
A61P 29/00	*(2006.01)*	A61P	29/00	
A61P 37/02	*(2006.01)*	A61P	29/00	１０１
A61P 37/06	*(2006.01)*	A61P	37/02	
C07K 16/42	*(2006.01)*	A61P	37/06	
C12N 1/15	*(2006.01)*	C07K	16/42	
C12N 1/19	*(2006.01)*	C12N	1/15	
C12N 1/21	*(2006.01)*	C12N	1/19	
C12N 5/10	*(2006.01)*	C12N	1/21	
C12P 21/08	*(2006.01)*	C12N	5/10	
G01N 33/53	*(2006.01)*	C12P	21/08	
		G01N	33/53	N

(74)代理人 100096943
弁理士 臼井 伸一
(74)代理人 100102808
弁理士 高梨 憲通
(74)代理人 100128646
弁理士 小林 恒夫
(74)代理人 100136799
弁理士 本田 亜希
(72)発明者 テンホー，クリストファー
アメリカ合衆国 ０１７４８ マサチューセッツ，ホプキントン，ウエッジウッド ドライヴ １０
(72)発明者 ムルガナンダム，アルムガン
インド ５６００３５ バンガローレ，ドッダカナハリ，サジャプール ロード，オポジット ツー ウィプロ コーポレイト オフィス，レインボー ドライヴ ３６４
(72)発明者 ラドナー，ロバート，チャールズ
アメリカ合衆国 ２１７５４ メリーランド，イジャムスヴィル，グリーン ヴァレイ ロード ３８２７
(72)発明者 ウッド，クリーヴ
アメリカ合衆国 ０２１１４ マサチューセッツ，ボストン，ホーソン，プレイス ２，ナンバー １７アール
(72)発明者 ビトンティ，アラン，ジェー.
アメリカ合衆国 ０１７２０ マサチューセッツ，アクトン，カールトン ドライヴ ３２
(72)発明者 シュタテル，ジェームズ
アメリカ合衆国 ２１７４０ メリーランド，ハガースタウン，ホワイト ホール ロード １００７
(72)発明者 マクドネル，ケヴィン
アメリカ合衆国 ０２４５１ マサチューセッツ，ウオルサム，デイル ストリート ３０５
(72)発明者 リウ，リミン

アメリカ合衆国 １９００２ ペンシルヴァニア，アッパー ダブリン，ジェントリイ レーン ３１９
(72)発明者 デュモント，ジェニファー
アメリカ合衆国 ０１４５０ マサチューセッツ，グロトン，ファーン テラス レーン ３７
(72)発明者 サトウ，アーロン
アメリカ合衆国 ９４８０５ カリフォルニア，リッチモンド，ヴェンチュラ ストリート ７６０

合議体
審判長 田村 明照
審判官 山本 匡子
審判官 高堀 栄二

(56)参考文献 国際公開第２００６／１１８７７２（WO，A２）
国際公開第２００７／８７２８９（WO，A２）
米国特許出願公開第２００７／００９２５０７（US，A１）
L. Roskos, et al, "HANDBOOK OF THERAPEUTIC ANTIBODIES", PartI, Chapter7, WILEY-VCH WEINHEIM, 2007
LIU LIMING、AMELIORATION OF EXPERIMENTAL AUTOIMMUNE MYASTHENIA GRAVIS IN RATS BY NEONATAL FCR BLOCKADE、JOURNAL OF IMMUNOLOGY、2007.04.、V178 N8、P5390-5398
GETMAN KATE E、PHARMACOKINETIC EFFECTS OF 4C9, AN ANTI-FCRN ANTIBODY, IN RATS: 以下備考、JOURNAL OF PHARMACEUTICAL SCIENCES、2005.04.01、V94 N4、P718-729
LI NING、COMPLETE FCRN DEPENDENCE FOR INTRAVENOUS IG THERAPY IN AUTOIMMUNE SKIN BLISTERING DISEASES、JOURNAL OF CLINICAL INVESTIGATION、2005.12.、V115 N12、P3440-3450
AKILESH SHREERAM、THE MHC CLASS I-LIKE FC RECEPTOR PROMOTES HUMORALLY MEDIATED AUTOIMMUNE DISEASE、JOURNAL OF CLINICAL INVESTIGATION、2004.05.01、V113 N9、P1328-1333
ROOPENIAN DERRY C、FCRN: THE NEONATAL FC RECEPTOR COMES OF AGE、NATURE REVIEWS、2007.09.01、V7 N9、P715-725
J. Mol. Biol., (1992), 224, [2], p.487-499
Immunol. Today, (1993), 14, [6], p.243-246

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)
C12N 15/00-90
MEDLINE／BIOSIS／WPIDS／REGISTORY／CA（STN）
JSTPlus／JMEDPlus／JST7580（JDreamIII）
GenBank／EMBL／DDBJ／GeneSeq
UniProt／GeneSeq

专利名称(译)	针对FcRn的抗体及其用途		
公开(公告)号	JP6106854B2	公开(公告)日	2017-04-05
申请号	JP2011506301	申请日	2009-04-24
[标]申请(专利权)人(译)	戴埃克斯有限公司 生物李根甲板戚Philia酒店墨		
申请(专利权)人(译)	模具斧，合作社 Baiogen Idekku血友病墨水.		
当前申请(专利权)人(译)	模具斧，合作社 Baiogen Idekku血友病墨水.		
[标]发明人	テンホークリストファー ムルガナンダムアルムガン ラドナーロバートチャールズ ウッドクリーヴ ビトンティアランジェー シュタテルジェームズ マクドネルケヴィン リウリミン デュモントジェニファー サトウアーロン		
发明人	テンホー,クリストファー ムルガナンダム,アルムガン ラドナー,ロバート,チャールズ ウッド,クリーヴ ビトンティ,アラン,ジェー. シュタテル,ジェームズ マクドネル,ケヴィン リウ,リミン デュモント,ジェニファー サトウ,アーロン		
IPC分类号	C12N15/09 A61K39/395 A61P1/04 A61P1/16 A61P3/10 A61P5/14 A61P9/00 A61P13/12 A61P17/00 A61P19/02 A61P21/00 A61P25/00 A61P29/00 A61P37/02 A61P37/06 C07K16/42 C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12N5/10 C12P21/08 G01N33/53		
CPC分类号	A61K2039/505 A61P37/00 C07K16/283 C07K2317/21 C07K2317/34 C07K2317/56 C07K2317/565 A61K39/395 C07K16/28 C12N15/09 A61K49/0058 A61K49/16 A61K51/1027 C07K2317/20 C07K2317/33 C07K2317/55 C07K2317/76 C07K2317/92 G01N33/68 G01N33/6854 G01N2333/70535		
FI分类号	C12N15/00.ZNA.A A61K39/395.U A61P1/04 A61P1/16 A61P3/10 A61P5/14 A61P9/00 A61P13/12 A61P17/00 A61P19/02 A61P21/00 A61P25/00 A61P29/00 A61P29/00.101 A61P37/02 A61P37/06 C07K16/42 C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12N5/10 C12P21/08 G01N33/53.N		
代理人(译)	臼井伸一 小林恒夫 本田亚希		
优先权	61/048152 2008-04-25 US 61/048500 2008-04-28 US		
其他公开文献	JP2011523351A		

	JP2011523351A5
外部链接	Espacenet

摘要(译)

本公开内容尤其提供了结合FcRn的蛋白质，例如以高亲和力和选择性抑制FcRn的免疫球蛋白。 FcRn结合蛋白可用于治疗各种疾病，包括自身免疫疾病。

(19)日本国特許庁(JP)　(12)特　許　公　報(B2)　(11)特許番号 特許第6106854号 (P6106854)

(45)発行日　平成29年4月5日(2017.4.5)　(24)登録日　平成29年3月17日(2017.3.17)

(51)Int.Cl.		F I		
C12N 15/09	(2006.01)	C12N	15/00	ZNAA
A61K 39/395	(2006.01)	A61K	39/395	U
A61P 1/04	(2006.01)	A61P	1/04	
A61P 1/16	(2006.01)	A61P	1/16	
A61P 3/10	(2006.01)	A61P	3/10	

請求項の数 11　(全 106 頁)　最終頁に続く

(21)出願番号	特願2011-506301 (P2011-506301)
(86)(22)出願日	平成21年4月24日(2009.4.24)
(65)公表番号	特表2011-523351 (P2011-523351A)
(43)公表日	平成23年8月11日(2011.8.11)
(86)国際出願番号	PCT/US2009/002536
(87)国際公開番号	WO2009/131702
(87)国際公開日	平成21年10月29日(2009.10.29)
審査請求日	平成24年4月10日(2012.4.10)
審判番号	不服2015-2911 (P2015-2911/J1)
審判請求日	平成27年2月16日(2015.2.16)
(31)優先権主張番号	61/048,152
(32)優先日	平成20年4月25日(2008.4.25)
(33)優先権主張国	米国(US)
(31)優先権主張番号	61/048,500
(32)優先日	平成20年4月28日(2008.4.28)
(33)優先権主張国	米国(US)

(73)特許権者　502352519
ダイアックス、コープ
ＤＹＡＸ　ＣＯＲＰ．
アメリカ合衆国マサチューセッツ州０１８０３，バーリントン，ネットワーク・ドライブ　５５
(73)特許権者　510283959
バイオゲン　イデック　ヘモフィリア　インク．
アメリカ合衆国　０２１４２　マサチューセッツ，ケンブリッジ，ケンブリッジ　センター　１４
(74)代理人　100094112
弁理士　岡部　讓

最終頁に続く

(54)【発明の名称】ＦｃＲｎに対する抗体及びその使用