(19)日本国特許庁(JP)　(12)公開特許公報(A)　(11)特許出願公開番号
特開2019-11329
(P2019-11329A)
(43)公開日　平成31年1月24日(2019.1.24)

(51)Int.Cl.		F I			テーマコード（参考）
C07K 16/12	(2006.01)	C07K	16/12	ZNA	4B063
C07K 17/08	(2006.01)	C07K	17/08		4B064
C12Q 1/02	(2006.01)	C12Q	1/02		4C084
A61K 39/395	(2006.01)	A61K	39/395	R	4C085
A61K 39/40	(2006.01)	A61K	39/40		4H045

審査請求 有　請求項の数 16　ＯＬ　（全 120 頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2018-127340 (P2018-127340)
(22)出願日　平成30年7月4日 (2018.7.4)
(62)分割の表示　特願2017-23905 (P2017-23905)の分割
原出願日　平成24年2月7日 (2012.2.7)
(31)優先権主張番号　61/440,581
(32)優先日　平成23年2月8日 (2011.2.8)
(33)優先権主張国　米国 (US)

（特許庁注：以下のものは登録商標）
１．ＴＷＥＥＮ
２．プルロニック
３．Ｐｌｕｒｏｎｉｃ

(71)出願人　504333972
メディミューン，エルエルシー
アメリカ合衆国　２０８７８　メリーランド州，ゲイサーズバーグ，ワン　メディミューン　ウェイ
(74)代理人　100091096
弁理士　平木　祐輔
(74)代理人　100118773
弁理士　藤田　節
(74)代理人　100111741
弁理士　田中　夏夫

最終頁に続く

(54)【発明の名称】黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ａｕｒｅｕｓ）α毒素に特異的に結合する抗体及び使用方法

(57)【要約】　（修正有）
【課題】黄色ブドウ球菌α毒素に結合する抗体及び断片の組成物、製造方法及び使用方法を提供する。
【解決手段】精製／単離抗体又は抗体の断片であって、黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ａｕｒｅｕｓ）α毒素ポリペプチドに免疫特異的に結合し、且つ（ａ）特定の4種のアミノ酸配列のいずれかと同一の、又はそれと比べて１、２、又は３個のアミノ酸残基置換を含むアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ１；（ｂ）別の特定の６種のアミノ酸配列のいずれかと同一の、又はそれと比べて１、２、又は３個のアミノ酸残基置換を含むアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ２、及び（ｃ）他の特定の１２種のアミノ酸配列のいずれかと同一の、又はそれと比べて１、２、又は３個のアミノ酸残基置換を含むアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ３を含む抗体又は断片。
【選択図】図１

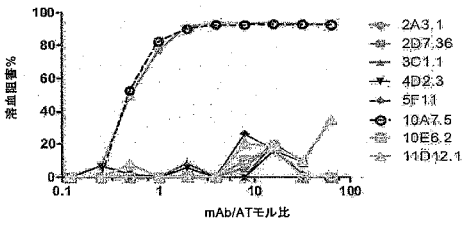


図1A

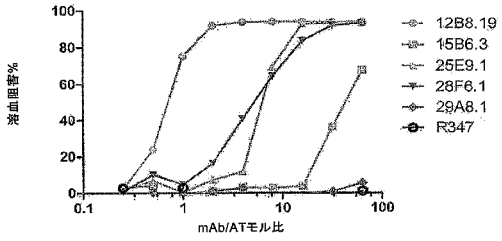


図1B

【特許請求の範囲】
【請求項１】
精製／単離抗体又は抗体の断片であって、黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ａｕｒｅｕｓ）α毒素ポリペプチドに免疫特異的に結合し、且つ
（ａ）配列番号７、１０、１３又は６９と同一の、又はそれと比べて１、２、又は３個のアミノ酸残基置換を含むアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ１；
（ｂ）配列番号８、１１、１４、１７、７０又は７５と同一の、又はそれと比べて１、２、又は３個のアミノ酸残基置換を含むアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ２、及び
（ｃ）配列番号９、１２、１５、１８、１６、６５、６６、６７、７１、７２、７６又は７８と同一の、又はそれと比べて１、２、又は３個のアミノ酸残基置換を含むアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ３
を含む抗体又は断片。
【請求項２】
前記ＶＨ　ＣＤＲ１、ＶＨ　ＣＤＲ２及びＶＨ　ＣＤＲ３が、配列番号７、８及び９；配列番号１０、１１及び１２；配列番号１３、１４及び１５；配列番号７、１７及び１８；配列番号７、８及び１６；配列番号７、８及び６５；配列番号７、８及び６６；配列番号７、８、及び６７；配列番号７、８及び７８；配列番号６９、７０及び７１；配列番号７、８及び７２；配列番号６９、７５及び７１；配列番号６９、７５及び７６；又は配列番号６９、７０及び７１により表される、請求項１に記載の抗体又は抗原結合断片。
【請求項３】
単離抗体又はその抗原結合断片であって、黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ａｕｒｅｕｓ）α毒素ポリペプチドに免疫特異的に結合し、且つ
（ａ）配列番号７、１０、１３又は６９のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ１；
（ｂ）配列番号８、１１、１４、１７、７０又は７５のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ２；
（ｃ）配列番号９、１２、１５、１８、１６、６５、６６、６７、７１、７２、７６又は７８のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ３；
（ｄ）配列番号１又は４のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ１；
（ｅ）配列番号２、５、７３又は７７のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ２；及び
（ｆ）配列番号３、６、６４、６８又は７４のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ３
を含む単離抗体又はその抗原結合断片。
【請求項４】
前記ＶＨ　ＣＤＲ１、ＶＨ　ＣＤＲ２、ＶＨ　ＣＤＲ３、ＶＬ　ＣＤＲ１、ＶＬ　ＣＤＲ２及びＶＬ　ＣＤＲ３が、配列番号７、８、９、１、２及び３；配列番号１０、１１、１２、１、２及び３；配列番号１３、１４、１５、４、５及び６；配列番号７、１７、１８、１、２及び３；配列番号７、８、１６、１、２及び６４；配列番号７、８、６５、１、２及び６４；配列番号７、８、６６、１、２及び６４；配列番号７、８、６７、１、２及び６８；配列番号７、８、６７、１、２及び６４；配列番号７、８、７８、１、２及び６４；配列番号７、８、６５、１、２及び６８；配列番号６９、７０、７１、１、２及び６８；配列番号７、８、７２、１、７３及び７４；配列番号６９、７５、７１、１、２及び６８；配列番号６９、７５、７６、１、２及び６８；配列番号６９、７５、７６、１、７７及び７４；配列番号６９、７０、７１、１、７７及び７４のアミノ酸配列に対応する、請求項３に記載の抗体又は抗原結合断片。
【請求項５】
前記単離抗体又はその抗原結合断片が、（ｉ）３つのＣＤＲを含むＶＨ鎖ドメインと３つのＣＤＲを含むＶＬ鎖ドメインとを含み；及び（ｉｉ）黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ａｕｒｅｕｓ）α毒素ポリペプチドに免疫特異的に結合し、前記ＶＨ鎖ドメインの前記３つのＣＤＲが、
（ａ）配列番号７、１０、１３又は６９のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ１；
（ｂ）配列番号８、１１、１４、１７、７０又は７５のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤ

Ｒ２；及び
（ｃ）配列番号９、１２、１５、１８、１６、６５、６６、６７、７１、７２、７６又は７８のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ３
を含む、請求項１に記載の単離抗体又はその抗原結合断片。
【請求項６】
前記ＶＨ　ＣＤＲ１、ＶＨ　ＣＤＲ２及びＶＨ　ＣＤＲ３が、配列番号７、８及び９；配列番号１０、１１及び１２；配列番号１３、１４及び１５；配列番号７、１７及び１８；配列番号７、８及び１６；配列番号７、８及び６５；配列番号７、８及び６６；配列番号７、８、及び６７；配列番号７、８及び７８；配列番号６９、７０及び７１；配列番号７、８及び７２；配列番号６９、７５及び７１；配列番号６９、７５及び７６；又は配列番号６９、７０及び７１のアミノ酸配列に対応する、請求項５に記載の抗体又は抗原結合断片。
【請求項７】
前記単離抗体又はその抗原結合断片が、（ｉ）３つのＣＤＲを含むＶＨ鎖ドメインと３つのＣＤＲを含むＶＬ鎖ドメインとを含み；及び（ｉｉ）黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ａｕｒｅｕｓ）α毒素ポリペプチドに免疫特異的に結合し、前記ＶＬ鎖ドメインの前記３つのＣＤＲが、
（ａ）配列番号１又は４のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ１；
（ｂ）配列番号２、５、７３又は７７のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ２；及び
（ｃ）配列番号３、６、６４、６８又は７４のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ３
を含む、請求項１に記載の単離抗体又はその抗原結合断片。
【請求項８】
前記ＶＬ　ＣＤＲ１、ＶＬ　ＣＤＲ２及びＶＬ　ＣＤＲ３が、配列番号１、２及び３；配列番号４、５及び６；配列番号１、２及び６４；配列番号１、２及び６８；配列番号１、７３及び７４；又は配列番号１、７７及び７４のアミノ酸配列に対応する、請求項７に記載の抗体又は抗原結合断片。
【請求項９】
（ｉ）黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ａｕｒｅｕｓ）α毒素ポリペプチドに免疫特異的に結合し、（ｉｉ）配列番号２０、２２、２４、２６、２８、４１、４３、４５、４７、４９、５１、５３、５５、５７、７９、５９、６１、又は６２のアミノ酸配列と少なくとも９０％の同一性を有する重鎖可変ドメインを含み、及び（ｉｉｉ）配列番号１９、２１、２３、２５、２７、４２、４４、４６、４８、５０、５２、５４、５６、５８、６０又は６３のアミノ酸配列と少なくとも９０％の同一性を有する軽鎖可変ドメインを含む単離抗体又はその抗原結合断片。
【請求項１０】
前記ＶＨ及びＶＬが、配列番号２０及び１９；配列番号２２及び２１；配列番号２４及び２３；配列番号２６及び２５；配列番号２８及び２７；配列番号４１及び４２；配列番号４３及び４４；配列番号４５及び４６；配列番号４７及び４８；配列番号４７及び４８；配列番号４９及び５０；配列番号５１及び５２；配列番号５１及び５２；配列番号５３及び５４；配列番号５５及び５６；配列番号５７及び５８；配列番号５９及び６０；配列番号６１及び５８；配列番号６２及び５８；配列番号６２及び６３；配列番号７９及び６３のアミノ酸配列に対応する、請求項９に記載の抗体又は抗原結合断片。
【請求項１１】
単離抗体又はその抗原結合断片であって、配列番号２０、２２、２４、２６、２８、４１、４３、４５、４７、４９、５１、５３、５５、５７、７９、５９、６１、又は６２の重鎖可変ドメインと、配列番号１９、２１、２３、２５、２７、４２、４４、４６、４８、５０、５２、５４、５６、５８、６０又は６３の軽鎖可変ドメインとを含む単離抗体又はその抗原結合断片。
【請求項１２】
前記ＶＨ及びＶＬが、配列番号２０及び１９；配列番号２２及び２１；配列番号２４及

び２３；配列番号２６及び２５；配列番号２８及び２７；配列番号４１及び４２；配列番号４３及び４４；配列番号４５及び４６；配列番号４７及び４８；配列番号４７及び４８；配列番号４９及び５０；配列番号５１及び５２；配列番号５１及び５２；配列番号５３及び５４；配列番号５５及び５６；配列番号５７及び５８；配列番号５９及び６０；配列番号６１及び５８；配列番号６２及び５８；配列番号６２及び６３；配列番号７９及び６３のアミノ酸配列に対応する、請求項１１に記載の抗体又は抗原結合断片。

【請求項１３】

前記単離抗体又はその抗原結合断片が、黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ａｕｒｅｕｓ）α毒素ポリペプチドに免疫特異的に結合し、且つ

（ａ）約１３ｎＭ以下のα毒素に対する親和性定数（K_D）；

（ｂ）α毒素モノマーに結合するが、α毒素のα毒素受容体との結合は阻害しない；

（ｃ）α毒素オリゴマーの形成を少なくとも５０％、６０％、７０％、８０％、９０％、又は９５％阻害する；

（ｄ）α毒素細胞溶解活性を（例えば、細胞溶解及び溶血アッセイにより決定されるとき）少なくとも５０％、６０％、７０％、８０％、９０％、又は９５％低下させる；及び

（ｅ）細胞浸潤及び炎症誘発性サイトカイン放出を（例えば、動物肺炎モデルにおいて）低下させる

からなる群から選択される特性の１つ以上を有する、請求項１～１２のいずれか一項に記載の抗体又は抗原結合断片。

【請求項１４】

前記単離抗体又はその抗原結合断片がさらなる薬剤を含む、請求項１～１３のいずれか一項に記載の抗体又は抗原結合断片。

【請求項１５】

前記さらなる薬剤が抗生物質である、請求項１４に記載の抗体又は抗原結合断片。

【請求項１６】

前記単離抗体又はその抗原結合断片が、前記治療剤にリンカーを介して連結される、請求項１４に記載の抗体又は抗原結合断片。

【請求項１７】

前記単離抗体又はその抗原結合断片が診断用薬剤をさらに含む、請求項１～１３のいずれか一項に記載の抗体又は抗原結合断片。

【請求項１８】

前記診断用薬剤が造影剤を含む、請求項１７に記載の抗体又は抗原結合断片。

【請求項１９】

前記診断用薬剤が検出可能標識を含む、請求項１７に記載の抗体又は抗原結合断片。

【請求項２０】

前記単離抗体又はその抗原結合断片が、前記診断用薬剤にリンカーを介して連結される、請求項１７に記載の抗体又は抗原結合断片。

【請求項２１】

前記黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ａｕｒｅｕｓ）α毒素ポリペプチドが天然の毒素ポリペプチドである、請求項１～２０のいずれか一項に記載の抗体又は抗原結合断片。

【請求項２２】

前記黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ａｕｒｅｕｓ）α毒素ポリペプチドが、配列番号３９又は配列番号４０のアミノ酸配列を含む、請求項１～２０のいずれか一項に記載の抗体又は抗原結合断片。

【請求項２３】

前記細胞が血液又は肺由来である、請求項Ａ１３に記載の抗体又は抗原結合断片。

【請求項２４】

前記血液由来の細胞が赤血球細胞である、請求項２３に記載の抗体又は抗原結合断片。

【請求項２５】

前記細胞溶解が溶血インビトロアッセイ又は乳酸デヒドロゲナーゼインビトロアッセイにより決定される、請求項１３、２３又は２４のいずれか一項に記載の抗体又は抗原結合断片。

【請求項２６】

前記単離抗体又はその抗原結合断片が、黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ａｕｒｅｕｓ）α毒素ポリペプチドに免疫特異的に結合し、且つ配列番号９、１２、１５、１８、１６、６５、６６、６７、７１、７２、７６又は７８と同一の、又はそれと比べて１、２、又は３個のアミノ酸残基置換を含むアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ３を含み、前記抗体又は抗原結合断片が、前記黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ａｕｒｅｕｓ）α毒素ポリペプチドを中和する、請求項１～２５のいずれか一項に記載の抗体又は抗原結合断片。

【請求項２７】

前記単離抗体又はその抗原結合断片が、黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ａｕｒｅｕｓ）α毒素ポリペプチドに免疫特異的に結合し、且つ配列番号３、６、６４、６８又は７４と同一の、又はそれと比べて１、２、又は３個のアミノ酸残基置換を含むアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ３を含み、前記抗体又は抗原結合断片が、黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ａｕｒｅｕｓ）α毒素ポリペプチドを中和する、請求項１～２６のいずれか一項に記載の抗体又は抗原結合断片。

【請求項２８】

前記単離抗体又はその抗原結合断片が、黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ａｕｒｅｕｓ）α毒素ポリペプチドに免疫特異的に結合し、且つ配列番号９、１２、１５、１８、１６、６５、６６、６７、７１、７２、７６又は７８と同一の、又はそれと比べて１、２、又は３個のアミノ酸残基置換を含むアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ３を含み、前記抗体又は抗原結合断片が、黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ａｕｒｅｕｓ）α毒素ポリペプチドのオリゴマー形成を阻害する、請求項１～２７のいずれか一項に記載の抗体又は抗原結合断片。

【請求項２９】

前記単離抗体又はその抗原結合断片が、黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ａｕｒｅｕｓ）α毒素ポリペプチドに免疫特異的に結合し、且つ配列番号３、６、６４、６８又は７４と同一の、又はそれと比べて１、２、又は３個のアミノ酸残基置換を含むアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ３を含み、前記抗体又は抗原結合断片が、黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ａｕｒｅｕｓ）α毒素ポリペプチドのオリゴマー形成を阻害する、請求項１～２８のいずれか一項に記載の抗体又は抗原結合断片。

【請求項３０】

前記オリゴマー形成の阻害が、インビトロ結合及び／又は電気泳動移動度アッセイにより決定される、請求項１３、２８又は２９のいずれか一項に記載の抗体又は抗原結合断片。

【請求項３１】

請求項１～３０のいずれか一項に記載の抗体又は抗原結合断片を含む組成物。

【請求項３２】

（ａ）請求項１～３０のいずれか一項に記載の抗体若しくは抗原結合断片又は請求項３１に記載の組成物；

（ｂ）前記組成物の使用説明書又は前記組成物の使用説明書の入手方法指図書

を含むキット。

【請求項３３】

前記組成物中の前記抗体が、固体担体に連結されている、請求項３２に記載のキット。

【請求項３４】

前記固体担体がビーズである、請求項３３に記載のキット。

【請求項３５】

前記ビーズがセファロースビーズである、請求項３４に記載のキット。

【請求項３６】
前記使用説明書が、黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ａｕｒｅｕｓ）α毒素ポリペプチドの単離、精製、検出及び定量化の１つ以上を収録している、請求項３２～３５のいずれか一項に記載のキット。
【請求項３７】
緩衝液、固体担体又は緩衝液及び固体担体を含む、請求項３２～３６のいずれか一項に記載のキット。
【請求項３８】
前記固体担体が、ビーズ、フィルター、膜及びマルチウォールプレート（ｍｕｌｔｉｗａｌｌ　ｐｌａｔｅ）の１つ以上である、請求項３７に記載のキット。
【請求項３９】
ウエスタンブロットに好適な緩衝液及び膜を含む、請求項３７に記載のキット。
【請求項４０】
負荷緩衝液と溶出緩衝液とを含む、請求項３７に記載のキット。
【請求項４１】
酵素結合免疫吸着（ｅｎｚｙｍｅ－ｌｉｎｋｅｄ　ｉｍｍｕｎｏｓｏｒｂａｎｔ）アッセイ（ＥＬＩＳＡ）に好適な緩衝液を含む、請求項３７に記載のキット。
【請求項４２】
対象における肺炎の予防、治療又は管理方法であって、
請求項１～３０のいずれか一項に記載の抗体若しくは抗原結合断片又は請求項３１に記載の組成物を、それを必要とする対象に対し、肺炎を予防、治療又は管理するのに有効な量で投与するステップ
を含む方法。
【請求項４３】
肺炎の予防方法である、請求項４２に記載の方法。
【請求項４４】
前記抗体又はその抗原結合断片が、配列番号３９内の立体構造エピトープに免疫特異的に結合する、請求項４２又は４３に記載の方法。
【請求項４５】
対象における皮膚感染病態の予防、治療又は管理方法であって、黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ａｕｒｅｕｓ）α毒素ポリペプチドに免疫特異的に結合する抗体又はその抗原結合断片を、それを必要とする対象に対し、皮膚感染病態を予防、治療又は管理するのに有効な量で投与するステップを含む方法。
【請求項４６】
前記皮膚感染病態が皮膚壊死である、請求項４５に記載の方法。
【請求項４７】
前記皮膚感染病態が、皮膚の黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ａｕｒｅｕｓ）感染を含む、請求項４５又は４６に記載の方法。
【請求項４８】
皮膚感染病態の予防方法である、請求項４５～４７のいずれか一項に記載の方法。
【請求項４９】
黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ａｕｒｅｕｓ）感染に関連する病態の予防、治療又は管理方法であって、黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ａｕｒｅｕｓ）α毒素ポリペプチドに免疫特異的に結合する抗体又はその抗原結合断片を、それを必要とする対象に対し、毒素ポリペプチドのオリゴマー形成を低減するのに有効な量で投与するステップを含む方法。
【請求項５０】
黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ａｕｒｅｕｓ）感染に関連する病態の予防方法である、請求項４９に記載の方法。
【請求項５１】

黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ａｕｒｅｕｓ）感染に関連する病態の予防、治療又は管理方法であって、黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ａｕｒｅｕｓ）α毒素ポリペプチドに免疫特異的に結合する抗体又はその抗原結合断片を、それを必要とする対象に対し、赤血球の溶解を低減するのに有効な量で投与するステップを含む方法。

【請求項５２】

黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ａｕｒｅｕｓ）感染に関連する病態の予防方法である、請求項５１に記載の方法。

【請求項５３】

前記赤血球が血液又は肺由来の細胞である、請求項５１又は５２に記載の方法。

【請求項５４】

前記抗体又はその抗原結合断片が、

（ａ）約１３ｎＭ以下のα毒素に対する親和性定数（K_D）；

（ｂ）α毒素モノマーに結合するが、α毒素のα毒素受容体との結合は阻害しない；

（ｃ）α毒素オリゴマーの形成を少なくとも５０％、６０％、７０％、８０％、９０％、又は９５％阻害する；

（ｄ）α毒素細胞溶解活性を（例えば、細胞溶解及び溶血アッセイにより決定されるとき）少なくとも５０％、６０％、７０％、８０％、９０％、又は９５％低下させる；及び

（ｅ）細胞浸潤及び炎症誘発性サイトカイン放出を（例えば、動物肺炎モデルにおいて）低下させる

からなる群から選択される特性の１つ以上を有する、請求項４５～５３のいずれか一項に記載の方法。

【請求項５５】

前記抗体又はその抗原結合断片が、配列番号３９内の立体構造エピトープに免疫特異的に結合する、請求項５４に記載の方法。

【請求項５６】

前記対象に投与される前記抗体若しくは抗原結合断片又は組成物が、請求項１～３０のいずれか一項又は請求項３１に記載の組成物に従う、請求項４２～５５のいずれか一項に記載の方法。

【請求項５７】

請求項１～３０のいずれか一項に記載の抗体若しくは抗原結合断片又は請求項３１に記載の組成物を細胞に投与するステップ；及び

前記細胞への前記組成物の投与に関連する生物学的作用の存在、非存在又は量を検出するステップ

を含む方法。

【請求項５８】

請求項１～３０のいずれか一項に記載の抗体若しくは抗原結合断片又は請求項３１に記載の組成物を対象に投与するステップ；及び

前記組成物の投与に関連する前記対象における生物学的作用の存在、非存在又は量を検出するステップ

を含む方法。

【請求項５９】

請求項１～３０のいずれか一項に記載の抗体若しくは抗原結合断片又は請求項３１に記載の組成物を対象に投与するステップ；及び

前記対象の状態をモニタするステップ

を含む方法。

【請求項６０】

黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ａｕｒｅｕｓ）α毒素ポリペプチドの中和方法であって、それを必要とする対象に対し、有効量の請求項１～３０のいずれか一項に記載の抗体若しくは抗原結合断片又は請求項３１に記載の組成物を投与して前記毒

素ポリペプチドを中和することによる、方法。
【請求項６１】
必要とする対象において黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ａｕｒｅｕｓ）α毒素によって媒介される病態を予防、治療、又は管理する方法であって、有効量の請求項１～３０のいずれか一項に記載の抗体若しくは抗原結合断片又は請求項３１に記載の組成物を前記対象に投与して前記病態を予防、治療又は管理するステップを含む方法。
【請求項６２】
必要とする対象において黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ａｕｒｅｕｓ）α毒素によって媒介される障害の症状を治療、予防又は緩和する方法であって、有効量の請求項１～３０のいずれか一項に記載の抗体若しくは抗原結合断片又は請求項３１に記載の組成物を前記対象に投与して前記症状を治療、予防又は緩和するステップを含む方法。
【請求項６３】
対象において黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ａｕｒｅｕｓ）α毒素によって媒介される病態を診断する方法であって、診断を必要とする対象を選択するステップと、診断上有効な用量の請求項１～３０のいずれか一項に記載の抗体若しくは抗原結合断片又は請求項３１に記載の組成物を前記対象に投与するステップとを含む方法。
【請求項６４】
前記対象が家畜である、請求項４２～６３のいずれか一項に記載の方法。
【請求項６５】
前記対象がヒトである、請求項４２～６３のいずれか一項に記載の方法。
【請求項６６】
請求項１～３０のいずれか一項に記載の抗体若しくは抗原結合断片又は請求項３１に記載の組成物により黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ａｕｒｅｕｓ）α毒素オリゴマーの形成を少なくとも５０％、６０％、７０％、８０％、９０％又は９５％阻害する方法。
【請求項６７】
前記黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ａｕｒｅｕｓ）α毒素オリゴマーの形成の阻害が、活性な膜孔形成複合体の形成を阻害する、請求項６６に記載の方法。
【請求項６８】
請求項１～３０のいずれか一項に記載の抗体若しくは抗原結合断片又は請求項３１に記載の組成物により黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ａｕｒｅｕｓ）α毒素細胞溶解活性を少なくとも５０％、６０％、７０％、８０％、９０％、又は９５％低下させる方法であって、前記細胞溶解活性が細胞溶解及び／又は溶血アッセイにより決定される、方法。
【請求項６９】
配列番号３９の黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ａｕｒｅｕｓ）α毒素の断片に免疫特異的に結合する単離抗体又はその抗原結合断片。
【請求項７０】
前記抗体又はその抗原結合断片が、配列番号３９のアミノ酸２６１～２７２を含む断片に結合する、請求項６９に記載の単離抗体又は抗原結合断片。
【請求項７１】
前記抗体又はその抗原結合断片が、配列番号３９の残基Ｔ２６１、Ｔ２６３、Ｎ２６４、Ｋ２６６及びＫ２７１と接触する、請求項６９又は７０に記載の単離抗体又は抗原結合断片。
【請求項７２】
前記抗体又はその抗原結合断片が、配列番号３９のアミノ酸１７３～２０１を含む断片に結合する、請求項６９又は７０に記載の単離抗体又はその抗原結合断片。
【請求項７３】
前記抗体又はその抗原結合断片が、配列番号３９の残基Ｎ１７７、Ｗ１７９、Ｇ１８０

、Ｐ１８１、Ｙ１８２、Ｄ１８３、Ｄ１８５、Ｓ１８６、Ｗ１８７、Ｎ１８８、Ｐ１８９、Ｖ１９０、Ｙ１９１及びＲ２００と接触する、請求項６９又は７２に記載の単離抗体又はその抗原結合断片。

【請求項７４】

前記抗体又はその抗原結合断片が、配列番号３９の残基Ｔ２６１、Ｔ２６３、Ｎ２６４、Ｋ２６６、Ｋ２７１、Ｎ１７７、Ｗ１７９、Ｇ１８０、Ｐ１８１、Ｙ１８２、Ｄ１８３、Ｄ１８５、Ｓ１８６、Ｗ１８７、Ｎ１８８、Ｐ１８９、Ｖ１９０、Ｙ１９１及びＲ２００と接触する、請求項６９～７３のいずれか一項に記載の単離抗体又はその抗原結合断片。

【請求項７５】

黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ａｕｒｅｕｓ）α毒素の断片に免疫特異的に結合する単離抗体又はその抗原結合断片であって、配列番号３９のアミノ酸２４８～２７７を含む断片に結合する抗体又はその抗原結合断片。

【請求項７６】

黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ａｕｒｅｕｓ）α毒素と免疫特異的に結合する単離抗体又はその抗原結合断片であって、前記抗体又はその抗原結合断片がα毒素のヘプタマー形成を阻止し、及び前記抗体又は抗原結合断片が、配列番号３９のＴ２６１、Ｔ２６３、Ｎ２６４、Ｋ２６６、Ｋ２７１、Ｎ１７７、Ｗ１７９、Ｇ１８０、Ｐ１８１、Ｙ１８２、Ｄ１８３、Ｄ１８５、Ｓ１８６、Ｗ１８７、Ｎ１８８、Ｐ１８９、Ｖ１９０、Ｙ１９１及びＲ２００からなる群から選択される１つ以上の残基と接触する、単離抗体又はその抗原結合断片。

【請求項７７】

肺炎の治療方法である、請求項４２に記載の方法。

【請求項７８】

皮膚感染病態の治療方法である、請求項４５～４７のいずれか一項に記載の方法。

【請求項７９】

黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ａｕｒｅｕｓ）感染に関連する病態の治療方法である、請求項４９に記載の方法。

【請求項８０】

前記抗生物質がバンコマイシンである、請求項１５に記載の抗体又は抗原結合断片。

【請求項８１】

α毒素オリゴマーの形成を阻害する方法であって、α毒素モノマーを、黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ａｕｒｅｕｓ）α毒素と免疫特異的に結合する単離抗体又はその抗原結合断片に接触させるステップを含む方法において、前記抗体又は抗原結合断片が、配列番号３９のＴ２６１、Ｔ２６３、Ｎ２６４、Ｋ２６６、Ｋ２７１、Ｎ１７７、Ｗ１７９、Ｇ１８０、Ｐ１８１、Ｙ１８２、Ｄ１８３、Ｄ１８５、Ｓ１８６、Ｗ１８７、Ｎ１８８、Ｐ１８９、Ｖ１９０、Ｙ１９１及びＲ２００からなる群から選択される１つ以上の残基と接触する。

【請求項８２】

前記抗体又はその抗原結合断片が、Ｔ２６１、Ｔ２６３、Ｎ２６４、Ｋ２６６及びＫ２７１と接触する、請求項８１に記載の方法。

【請求項８３】

前記抗体又はその抗原結合断片が、Ｎ１７７、Ｗ１７９、Ｇ１８０、Ｐ１８１、Ｙ１８２、Ｄ１８３、Ｄ１８５、Ｓ１８６、Ｗ１８７、Ｎ１８８、Ｐ１８９、Ｖ１９０、Ｙ１９１及びＲ２００とさらに接触する、請求項８２に記載の方法。

【請求項８４】

Ｆｃ変異領域を有する単離抗体又はその抗原結合断片であって、配列番号ＸＸ及び配列番号ＹＹを含む単離抗体。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【０００１】
本技術は、一部において抗体に関し、特定の実施形態では、黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ａｕｒｅｕｓ）α毒素に特異的に結合する抗体に関する。
【背景技術】
【０００２】
黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ａｕｒｅｕｓ）は、一般に健康なヒトの鼻及び皮膚に定着する、グラム陽性で通性好気性の、凝集塊を形成する球菌である。常に人口の約２０～３０％に黄色ブドウ球菌（Ｓ．ａｕｒｅｕｓ）が定着している。黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ａｕｒｅｕｓ）細菌は、ときに「スタフ（ｓｔａｐｈ）」、「スタフ・アウレウス（Ｓｔａｐｈ．ａｕｒｅｕｓ）」、又は「Ｓ．アウレウス（Ｓ．ａｕｒｅｕｓ）」とも称され、軽度の感染症（例えば、面皰、せつ）及び全身感染症を引き起こす日和見病原菌と見なされている。
【０００３】
粘膜及び表皮のバリア（皮膚）は、通常、黄色ブドウ球菌（Ｓ．ａｕｒｅｕｓ）の感染を防御する。傷害（例えば、火傷、外傷、外科手技など）を受けた結果としてこれらの天然のバリアが分断されると、感染のリスクが劇的に高まる。感染のリスクはまた、免疫系が損なわれる疾患（例えば、糖尿病、末期腎疾患、癌など）によっても高まる。日和見性の黄色ブドウ球菌（Ｓ．ａｕｒｅｕｓ）感染は重症化することもあり、非限定的な例として菌血症、蜂巣炎、眼瞼感染症、食中毒、関節感染、皮膚感染、熱傷様皮膚症候群、毒素性ショック症候群、肺炎、骨髄炎、心内膜炎、髄膜炎及び膿瘍形成が含まれる様々な疾患又は病態を引き起こし得る。
【０００４】
黄色ブドウ球菌（Ｓ．ａｕｒｅｕｓ）はまた、動物にも感染症及び疾患を引き起こし得る。例えば、黄色ブドウ球菌（Ｓ．ａｕｒｅｕｓ）は、多くウシ乳腺炎に関連する。
【０００５】
黄色ブドウ球菌（Ｓ．ａｕｒｅｕｓ）は、莢膜多糖類及びタンパク毒素を含む多くのビルレンス因子を発現する。細胞毒性の主因物質である、黄色ブドウ球菌（Ｓ．ａｕｒｅｕｓ）感染と関連付けられることの多い一つのビルレンス因子は、α毒素（α溶血素又はＨｌａとしても知られる）であり、これは、ほとんどの病原性黄色ブドウ球菌（Ｓ．ａｕｒｅｕｓ）株が産生する膜孔形成性及び溶血性の菌体外タンパク質である。この毒素は、白血球細胞、血小板、赤血球、末梢血単球、マクロファージ、ケラチノサイト、線維芽細胞及び内皮細胞などの感受性細胞の膜にヘプタマーの孔を形成する。α毒素の膜孔形成は、多くの場合に細胞の機能障害又は溶解を引き起こす。
【発明の概要】
【課題を解決するための手段】
【０００６】
特定の実施形態では、精製又は単離抗体、又はその抗原結合断片が提供され、この抗体又は断片は、黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ａｕｒｅｕｓ）α毒素ポリペプチドに免疫特異的に結合する。用語「α毒素ポリペプチド」、「α毒素モノマー」及び「α毒素オリゴマー（例えばヘプタマー）」は、本明細書では、それぞれ「ＡＴ」、「ＡＴモノマー」及び「ＡＴオリゴマー」と称される。用語「可変重鎖」は「ＶＨ」と称される。用語「可変軽鎖」は「ＶＬ」と称される。
【０００７】
一部の実施形態では、黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ａｕｒｅｕｓ）α毒素ポリペプチドに免疫特異的に結合する単離抗体又はその抗原結合断片は、（ａ）配列番号７、１０、１３又は６９と同一の、又はそれと比べて１、２、又は３個のアミノ酸残基置換を含むアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ１；（ｂ）配列番号８、１１、１４、１７、７０又は７５と同一の、又はそれと比べて１、２、又は３個のアミノ酸残基置換を含むアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ２；及び（ｃ）配列番号９、１２、１５、１８、１６、６５、６６、６７、７１、７２、７６又は７８と同一の、又はそれと比べて１、２、

又は３個のアミノ酸残基置換を含むアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ３を含む。
【０００８】
詳細な実施形態では、単離抗体又はその抗原結合断片は、配列番号７、８及び９；配列番号１０、１１及び１２；配列番号１３、１４及び１５；配列番号７、１７及び１８；配列番号７、８及び１６；配列番号７、８及び６５；配列番号７、８及び６６；配列番号７、８、及び６７；配列番号７、８及び７８；配列番号６９、７０及び７１；配列番号７、８及び７２；配列番号６９、７５及び７１；配列番号６９、７５及び７６；又は配列番号６９、７０及び７１と同一の、又はそれと比べて各ＣＤＲに１、２、又は３個のアミノ酸残基置換を含むアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ１、ＶＨ　ＣＤＲ２及びＶＨ　ＣＤＲ３を含む。
【０００９】
一部の実施形態では、黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ａｕｒｅｕｓ）α毒素ポリペプチドに免疫特異的に結合する単離抗体又はその抗原結合断片は、（ａ）配列番号１又は４と同一の、又はそれと比べて１、２、又は３個のアミノ酸残基置換を含むアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ１；（ｂ）配列番号２、５、７３又は７７と同一の、又はそれと比べて１、２、又は３個のアミノ酸残基置換を含むアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ２；及び（ｃ）配列番号３、６、６４、６８又は７４と同一の、又はそれと比べて１、２、又は３個のアミノ酸残基置換を含むアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ３を含む。
【００１０】
詳細な実施形態では、単離抗体又はその抗原結合断片は、配列番号１、２及び３；配列番号４、５及び６；配列番号１、２及び６４；配列番号１、２及び６８；配列番号１、７３及び７４；又は配列番号１、７７及び７４と同一の、又はそれと比べて各ＣＤＲに１、２、又は３個のアミノ酸残基置換を含むアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ１、ＶＬ　ＣＤＲ２及びＶＬ　ＣＤＲ３を含む。
【００１１】
一部の実施形態では、黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ａｕｒｅｕｓ）α毒素ポリペプチドに免疫特異的に結合する単離抗体又はその抗原結合断片は、（ａ）配列番号７、１０、１３又は６９のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ１；（ｂ）配列番号８、１１、１４、１７、７０又は７５のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ２；（ｃ）配列番号９、１２、１５、１８、１６、６５、６６、６７、７１、７２、７６又は７８のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ３；（ｄ）配列番号１又は４のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ１；（ｅ）配列番号２、５、７３、又は７７のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ２；及び（ｆ）配列番号３、６、６４、６８又は７４のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ３と同一の、又はそれと比べて各ＣＤＲに１、２、又は３個のアミノ酸残基置換を含むアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ１、ＶＨ　ＣＤＲ２、ＶＨ　ＣＤＲ３、ＶＬ　ＣＤＲ１、ＶＬ　ＣＤＲ２及びＶＬ　ＣＤＲ３を含む。
【００１２】
詳細な実施形態では、単離抗体又はその抗原結合断片は、配列番号７、８、９、１、２及び３；配列番号１０、１１、１２、１、２及び３；配列番号１３、１４、１５、４、５及び６；配列番号７、１７、１８、１、２及び３；配列番号７、８、１６、１、２及び６４；配列番号７、８、６５、１、２及び６４；配列番号７、８、６６、１、２及び６４；配列番号７、８、６７、１、２及び６８；配列番号７、８、６７、１、２及び６４；配列番号７、８、７８、１、２及び６４；配列番号７、８、６５、１、２及び６８；配列番号６９、７０、７１、１、２及び６８；配列番号７、８、７２、１、７３及び７４；配列番号６９、７５、７１、１、２及び６８；配列番号６９、７５、７６、１、２及び６８；配列番号６９、７５、７６、１、７７及び７４；配列番号６９、７０、７１、１、７７及び７４と同一の、又はそれと比べて各ＣＤＲに１、２、又は３個のアミノ酸残基置換を含むアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ１、ＶＨ　ＣＤＲ２、ＶＨ　ＣＤＲ３、ＶＬ　ＣＤＲ１、ＶＬ　ＣＤＲ２、及びＶＬ　ＣＤＲ３を含む。
【００１３】

一部の実施形態では、（ｉ）３つのＣＤＲを含むＶＨ鎖ドメインと３つのＣＤＲを含むＶＬ鎖ドメインとを含み；及び（ｉｉ）黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ ａｕｒｅｕｓ）α毒素ポリペプチドに免疫特異的に結合する単離抗体又はその抗原結合断片を含む組成物が提供され、ここでＶＨ鎖ドメインの３つのＣＤＲは、（ａ）配列番号７、１０、１３又は６９のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ１；（ｂ）配列番号８、１１、１４、１７、７０又は７５のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ２；及び（ｃ）配列番号９、１２、１５、１８、１６、６５、６６、６７、７１、７２、７６又は７８のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ３を含む。詳細な実施形態では、ＶＨ　ＣＤＲ１、ＶＨ　ＣＤＲ２及びＶＨ　ＣＤＲ３は、配列番号７、８及び９；配列番号１０、１１及び１２；配列番号１３、１４及び１５；配列番号７、１７及び１８；配列番号７、８及び１６；配列番号７、８及び６５；配列番号７、８及び６６；配列番号７、８、及び６７；配列番号７、８及び７８；配列番号６９、７０及び７１；配列番号７、８及び７２；配列番号６９、７５及び７１；配列番号６９、７５及び７６；又は配列番号６９、７０及び７１に対応する。

【００１４】

また、特定の実施形態では、（ｉ）３つのＣＤＲを含むＶＨ鎖ドメインと３つのＣＤＲを含むＶＬ鎖ドメインとを含み；及び（ｉｉ）黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ ａｕｒｅｕｓ）α毒素ポリペプチドに免疫特異的に結合する単離抗体又はその抗原結合断片を含む組成物も提供され、ここでＶＬ鎖ドメインの３つのＣＤＲは、（ａ）配列番号１又は４のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ１；（ｂ）配列番号２、５、７３、又は７７のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ２；及び（ｃ）配列番号３、６、６４、６８又は７４のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ３を含む。詳細な実施形態では、ＶＬ　ＣＤＲ１、ＶＬ　ＣＤＲ２及びＶＬ　ＣＤＲ３は、配列番号１、２及び３；配列番号４、５及び６；配列番号１、２及び６４；配列番号１、２及び６８；配列番号１、７３及び７４；又は配列番号１、７７及び７４に対応する。

【００１５】

また、一部の実施形態では、（ｉ）黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ ａｕｒｅｕｓ）α毒素ポリペプチドに免疫特異的に結合し、（ｉｉ）配列番号２０、２２、２４、２６、２８、４１、４３、４５、４７、４９、５１、５３、５５、５７、７９、５９、６１、又は６２のアミノ酸配列と少なくとも９０％の同一性を含む重鎖可変ドメインを含み、及び（ｉｉｉ）配列番号１９、２１、２３、２５、２７、４２、４４、４６、４８、５０、５２、５４、５６、５８、６０又は６３のアミノ酸配列と少なくとも９０％の同一性を含む軽鎖可変ドメインを含む単離抗体又はその抗原結合断片を含む組成物も提供される。

【００１６】

一部の実施形態では、単離抗体又はその抗原結合断片は、配列番号２０、２２、２４、２６、２８、４１、４３、４５、４７、４９、５１、５３、５５、５７、７９、５９、６１、又は６２の重鎖可変ドメインと、配列番号１９、２１、２３、２５、２７、４２、４４、４６、４８、５０、５２、５４、５６、５８、６０又は６３の軽鎖可変ドメインとを含む。

【００１７】

詳細な実施形態では、単離抗体又はその抗原結合断片はＶＨとＶＬとを含み、ここでＶＨ及びＶＬは、配列番号２０及び１９；配列番号２２及び２１；配列番号２４及び２３；配列番号２６及び２５；配列番号２８及び２７；配列番号４１及び４２；配列番号４３及び４４；配列番号４５及び４６；配列番号４７及び４８；配列番号４７及び４８；配列番号４９及び５０；配列番号５１及び５２；配列番号５１及び５２；配列番号５３及び５４；配列番号５５及び５６；配列番号５７及び５８；配列番号５９及び６０；配列番号６１及び５８；配列番号６２及び５８；配列番号６２及び６３；配列番号７９及び６３と各々同一であるか、又はそれと各々少なくとも９０％、９５％又は９８％の同一性を有する。

【００１８】

一部の実施形態では、単離抗体又はその抗原結合断片は、黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈ

ｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ａｕｒｅｕｓ）α毒素ポリペプチドに免疫特異的に結合し、且つ（ａ）黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ａｕｒｅｕｓ）α毒素ポリペプチドに対して約１３ｎＭ以下の親和性定数（K_D）；（ｂ）黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ａｕｒｅｕｓ）α毒素ポリペプチドのオリゴマー形成を少なくとも５０％、６０％、７０％、８０％、９０％、又は９５％阻害する；及び（ｃ）Ａ５４９（肺上皮）溶解又はＴＨＰ－１（単球）及び赤血球溶解を少なくとも５０％、６０％、７０％、８０％、９０％、又は９５％低減する、からなる群から選択される特性の１つ以上を有し、ここで単離抗体又は抗原結合断片及び黄色ブドウ球菌（Ｓ．ａｕｒｅｕｓ）毒素は約１：１のモル比で存在する。

【００１９】

一部の実施形態では、赤血球は血液由来の細胞である。特定の実施形態では、血液由来の細胞は赤血球細胞である。一部の実施形態では、溶解は、インビトロ溶血アッセイにより決定される。他の実施形態において、溶解は、インビトロ乳酸デヒドロゲナーゼ放出アッセイにより決定される。これらのアッセイについては以下にさらに記載され、又は当業者によりルーチンに実施され得る。

【００２０】

一部の実施形態では、単離抗体又はその抗原結合断片は診断用薬剤を含む。特定の実施形態では、診断用薬剤は造影剤を含む。診断用薬剤は、一部の実施形態では、検出可能標識を含む。特定の実施形態では、単離抗体又はその抗原結合断片は、診断用薬剤にリンカーを介して連結される。

【００２１】

一部の実施形態では、黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ａｕｒｅｕｓ）α毒素ポリペプチドは天然の毒素ポリペプチドである。黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ａｕｒｅｕｓ）α毒素ポリペプチドは、一部の実施形態では、天然の毒素ポリペプチドと比べて１つ以上のアミノ酸欠失、付加及び／又は置換（例えば、１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０個のアミノ酸挿入、欠失及び／又は置換）を含む。一部の実施形態では、黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ａｕｒｅｕｓ）α毒素ポリペプチドは組換えタンパク質である。特定の実施形態では、黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ａｕｒｅｕｓ）α毒素ポリペプチドは、配列番号３９のアミノ酸配列、又はその断片を含む。特定の他の実施形態において、黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ａｕｒｅｕｓ）α毒素ポリペプチドは弱毒化形態のポリペプチド、例えばＨ３５Ｌであり、ここでは、配列番号４０により示されるとおり、例えば野生型ポリペプチドの３５位のヒスチジンがロイシンに置換されている。

【００２２】

特定の実施形態では、単離抗体又はその抗原結合断片は、黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ａｕｒｅｕｓ）α毒素ポリペプチドに免疫特異的に結合し、且つ配列番号９、１２、１５、１８、１６、６５、６６、６７、７１、７２、７６又は７８と同一の、又はそれと比べて１、２、又は３個のアミノ酸残基置換を含むアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ３を含み、ここで抗体又はその抗原結合断片は、黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ａｕｒｅｕｓ）α毒素ポリペプチドを中和する。一部の実施形態では、単離抗体又は単離抗体の抗原結合断片は、黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ａｕｒｅｕｓ）α毒素ポリペプチドに免疫特異的に結合し、且つ配列番号３、６、６４、６８又は７４と同一の、又はそれと比べて１、２、又は３個のアミノ酸残基置換を含むアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ３を含み、ここで抗体又はその抗原結合断片は、黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ａｕｒｅｕｓ）α毒素ポリペプチドを中和する。

【００２３】

特定の実施形態では、単離抗体又はその抗原結合断片は、黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ａｕｒｅｕｓ）α毒素ポリペプチドに免疫特異的に結合し、且つ配列番号９、１２、１５、１８、１６、６５、６６、６７、７１、７２、７６又は７８と同

一の、又はそれと比べて１、２、又は３個のアミノ酸残基置換を含むアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ３を含み、ここで抗体又はその抗原結合断片は、黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ａｕｒｅｕｓ）α毒素ポリペプチドのオリゴマー形成を阻害する。一部の実施形態では、単離抗体又はその抗原結合断片は、黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ａｕｒｅｕｓ）α毒素ポリペプチドに免疫特異的に結合し、且つ配列番号３、６、６４、６８又は７４と同一の、又はそれと比べて１、２、又は３個のアミノ酸残基置換を含むアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ３を含み、ここで抗体又はその抗原結合断片は、黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ａｕｒｅｕｓ）α毒素ポリペプチドのオリゴマー形成を阻害する。特定の実施形態では、オリゴマー形成の阻害は、インビトロ結合及び電気泳動移動度アッセイにより決定される。

【００２４】

また、本明細書には、（ａ）単離抗体又はその抗原結合断片を含む組成物、及び（ｂ）組成物の使用説明書又は組成物の使用説明書の入手方法指図書を含むキットも提供される。一部の実施形態では、組成物中の抗体は固体担体に連結される。特定の実施形態では、固体担体はビーズであり、一部の実施形態では、ビーズはセファロースビーズである。一部の実施形態では、使用説明書には、黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ａｕｒｅｕｓ）α毒素ポリペプチドの単離、精製、検出及び定量化の１つ以上が収録される。

【００２５】

特定の実施形態では、キットは、ウエスタンブロットに好適な緩衝液及び膜を含む。一部の実施形態では、キットは、負荷緩衝液及び溶出緩衝液を含む。特定の実施形態では、キットは、酵素結合免疫吸着（ｅｎｚｙｍｅ－ｌｉｎｋｅｄ　ｉｍｍｕｎｏｓｏｒｂａｎｔ）アッセイ（ＥＬＩＳＡ）に好適な緩衝液を含む。

【００２６】

本明細書ではまた、対象における肺炎の予防、治療又は管理方法も提供され、これは、黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ａｕｒｅｕｓ）α毒素ポリペプチドに免疫特異的に結合する抗体又はその抗原結合断片を含む組成物を、それを必要とする対象に対し、肺炎を予防、治療又は管理するのに有効な量で投与するステップを含む。

【００２７】

一部の実施形態では、この方法は肺炎を予防する。特定の実施形態では、抗体又はその抗原結合断片は、ブドウ球菌α毒素ポリペプチドのアミノ酸１～２９３の、又はアミノ酸５１～２９３の１つ以上の残基を含む線状若しくは立体構造エピトープ又は一部分若しくは断片に免疫特異的に結合する。特定の実施形態では、抗体又はその抗原結合断片は断片と結合し、ここで抗体又は抗原結合断片は、配列番号３９のＴ２６１、Ｔ１６３、Ｎ２６４、Ｋ２６６及びＫ２７１に接触残基を有する。さらなる実施形態では、抗体又はその抗原結合断片はα毒素の断片に結合し、ここで抗体又は抗原結合断片は、配列番号３９のＮ１７７、Ｗ１７９、Ｇ１８０、Ｐ１８１、Ｙ１８２、Ｄ１８３、Ｄ１８５、Ｓ１８６、Ｗ１８７、Ｎ１８８、Ｐ１８９、Ｖ１９０、Ｙ１９１及びＲ２００にさらなる接触残基を有する。

【００２８】

特定の実施形態では、抗体又は抗原結合断片は、配列番号３９のＮ１７７、Ｗ１７９、Ｇ１８０、Ｐ１８１、Ｙ１８２、Ｄ１８３、Ｄ１８５、Ｓ１８６、Ｗ１８７、Ｎ１８８、Ｐ１８９、Ｖ１９０、Ｙ１９１、Ｒ２００、Ｔ２６１、Ｔ１６３、Ｎ２６４、Ｋ２６６及びＫ２７１に接触残基を有する。他の実施形態において、抗体又はその抗原結合断片は、配列番号３９のアミノ酸２６１～２７２を含む断片に結合する。さらなる実施形態では、抗体又はその抗原結合断片は、配列番号３９のアミノ酸２４８～２７７を含む断片に結合する。他の実施形態において、抗体又はその抗原結合断片は、配列番号３９のアミノ酸１７３～２０１を含む断片及び配列番号３９のアミノ酸２６１～２７２を含む断片に結合し、又は配列番号３９のアミノ酸１７３～２０１を含む断片及び配列番号３９のアミノ酸２４８～２７７を含む断片に結合する。

【００２９】
特定の実施形態では、抗体又はその抗原結合断片は断片と結合し、ここで抗体又は抗原結合断片は、配列番号４０のＴ２６１、Ｔ１６３、Ｎ２６４、Ｋ２６６及びＫ２７１に接触残基を有する。さらなる実施形態では、抗体又はその抗原結合断片はα毒素の断片と結合し、ここで抗体又は抗原結合断片は、配列番号４０のＮ１７７、Ｗ１７９、Ｇ１８０、Ｐ１８１、Ｙ１８２、Ｄ１８３、Ｄ１８５、Ｓ１８６、Ｗ１８７、Ｎ１８８、Ｐ１８９、Ｖ１９０、Ｙ１９１及びＲ２００にさらなる接触残基を有する。
【００３０】
特定の実施形態では、抗体又は抗原結合断片は、配列番号４０のＮ１７７、Ｗ１７９、Ｇ１８０、Ｐ１８１、Ｙ１８２、Ｄ１８３、Ｄ１８５、Ｓ１８６、Ｗ１８７、Ｎ１８８、Ｐ１８９、Ｖ１９０、Ｙ１９１、Ｒ２００、Ｔ２６１、Ｔ１６３、Ｎ２６４、Ｋ２６６及びＫ２７１に接触残基を有する。他の実施形態において、抗体又はその抗原結合断片は、配列番号４０のアミノ酸２６１～２７２を含む断片と結合する。さらなる実施形態では、抗体又はその抗原結合断片は、配列番号４０のアミノ酸２４８～２７７を含む断片と結合する。他の実施形態において、抗体又はその抗原結合断片は、配列番号４０のアミノ酸１７３～２０１を含む断片及び配列番号４０のアミノ酸２６１～２７２を含む断片と結合する。
【００３１】
他の実施形態において、抗体又はその抗原結合断片は、ブドウ球菌α毒素ポリペプチド又はブドウ球菌α毒素ポリペプチド変異体の（１）アミノ酸２６１～２７２、（２）アミノ酸２４８～２７７又は（３）アミノ酸１７３～２０１及び２６１～２７２を含む断片と結合し、ここでアミノ酸２６１～２７２、アミノ酸２４８～２７７又はアミノ酸１７３～２０１は、配列番号３９における対応する領域と同じアミノ酸配列に対応し、又は配列番号３９における対応する領域を有する断片内に置換を含み、この置換は、抗体又はその抗原結合断片のα毒素ポリペプチドとの結合能を変化させるものではない。
【００３２】
一部の実施形態では、対象における皮膚感染病態の予防、治療又は管理方法が提供され、これは、本発明に係る黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ａｕｒｅｕｓ）α毒素ポリペプチドに免疫特異的に結合する抗体又はその抗原結合断片を含む組成物を、それを必要とする対象に対し、皮膚感染病態を予防、治療又は管理するのに有効な量で投与するステップを含む。特定の実施形態では、皮膚感染病態は皮膚壊死である。一部の実施形態では、皮膚感染病態は、皮膚の黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ａｕｒｅｕｓ）感染を含む。特定の実施形態では、この方法は皮膚感染病態を予防する。
【００３３】
一部の実施形態では、黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ａｕｒｅｕｓ）感染に関連する病態の予防、治療又は管理方法が提供され、これは、本発明に係る黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ａｕｒｅｕｓ）α毒素ポリペプチドに免疫特異的に結合する抗体又はその抗原結合断片を含む組成物を、それを必要とする対象に対し、毒素ポリペプチドのオリゴマー形成を低減するのに有効な量で投与するステップを含む。特定の実施形態では、この方法は、黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ａｕｒｅｕｓ）感染に関連する病態を予防する。
【００３４】
一部の実施形態では、透析治療、高リスク手術、肺炎、人工呼吸器関連肺炎（ＶＡＰ）、又は既往の治療若しくは手術に関する前回の退院後の再感染に関連する黄色ブドウ球菌（Ｓ．ａｕｒｅｕｓ）感染の予防、治療又は管理方法が提供され、これは、黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ａｕｒｅｕｓ）α毒素ポリペプチドに免疫特異的に結合する抗体又はその抗原結合断片を含む組成物を、それを必要とする対象に投与するステップを含む。
【００３５】

また、一部の実施形態では、黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ａｕｒｅｕｓ）感染に関連する病態の予防、治療又は管理方法も提供され、これは、黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ａｕｒｅｕｓ）α毒素ポリペプチドに免疫特異的に結合する抗体又はその抗原結合断片を含む組成物を、それを必要とする対象に対し、細胞溶解を低減するのに有効な量で投与するステップを含む。特定の実施形態では、この方法は、黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ａｕｒｅｕｓ）感染に関連する病態を予防する。一部の実施形態では、細胞は、血液又は肺由来の赤血球である。

【００３６】

一部の実施形態では、抗体又はその抗原結合断片は、１つ以上の残基を含む線状又は立体構造エピトープに免疫特異的に結合する。特定の実施形態では、対象に投与される組成物は、本明細書に記載される組成物のいずれか１つに従う。

【００３７】

また、特定の実施形態では、本明細書に記載される組成物を細胞に投与するステップと；細胞への組成物の投与に関連する生物学的作用の存在、非存在又は量を検出するステップとを含む方法も提供される。また、一部の実施形態では、本明細書に記載される組成物を対象に投与するステップと；組成物の投与に関連する対象における生物学的作用の存在、非存在又は量を検出するステップとを含む方法も提供される。また、特定の実施形態では、本明細書に記載される組成物を対象に投与するステップと；対象の状態をモニタするステップとを含む方法も提供される。

【００３８】

また、一部の実施形態では、必要とする対象に対し、有効な量の本明細書に記載される組成物のいずれか１つを投与して毒素ポリペプチドを中和することによる、黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ａｕｒｅｕｓ）α毒素ポリペプチドの中和方法も提供される。

【００３９】

また、特定の実施形態では、必要とする対象において黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ａｕｒｅｕｓ）感染によって媒介される病態を予防、治療、又は管理する方法も提供され、この方法は、有効な量の本明細書に記載される組成物のいずれか１つを対象に投与して病態を予防、治療又は管理するステップを含む。また、一部の実施形態では、必要とする対象において黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ａｕｒｅｕｓ）α毒素によって媒介される障害の症状を治療、予防又は緩和する方法も提供され、これは、有効な量の本明細書に記載される組成物のいずれか１つを対象に投与して症状を治療、予防又は緩和するステップを含む。

【００４０】

また、特定の実施形態では、対象における黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ａｕｒｅｕｓ）α毒素によって媒介される病態の診断方法も提供され、これは、診断を必要とする対象を選択するステップと、診断上有効な用量の本明細書に記載される組成物のいずれか１つを対象に投与するステップとを含む。一部の実施形態では、対象は家畜であり、特定の実施形態では対象はヒトである。

【００４１】

以下の説明、例、特許請求の範囲及び図面において特定の実施形態をさらに説明する。

【００４２】

図面は本明細書の実施形態を例示するもので、限定するものではない。明確にするため、及び例示し易くするため、図面の縮尺は一定ではなく、ある場合には、詳細な実施形態の理解が促進されるように、様々な特徴が強調又は拡大して示され得る。

【図面の簡単な説明】

【００４３】

【図１】図１Ａ及び図１Ｂは、抗α毒素抗体による赤血球細胞溶解の阻害パーセントをグラフで示す。実験の詳細及び結果は実施例３に記載する。

【図２Ａ】抗α毒素抗体によるヒトＡ５４９及びＴＨＰ－１細胞溶解の阻害パーセントを

グラフで示す。実験の詳細及び結果は実施例３に記載する。
【図２Ｂ】抗α毒素抗体によるヒトＡ５４９及びＴＨＰ－１細胞溶解の阻害パーセントをグラフで示す。実験の詳細及び結果は実施例３に記載する。
【図３Ａ】皮膚壊死モデルにおける阻害性抗黄色ブドウ球菌（Ｓ．ａｕｒｅｕｓ）α毒素ｍＡｂによる受動免疫化の結果を示す。５匹のＢＡＬＢ／ｃマウスの群を５ｍｇ／ｋｇの阻害性ｍＡｂで免疫し、次に黄色ブドウ球菌（Ｓ．ａｕｒｅｕｓ）Ｗｏｏｄ株に感染させ、病変のサイズを６日間モニタした。図３Ａは、感染６日後の病変サイズの写真を示す。実験の詳細及び結果は実施例４に記載する。
【図３Ｂ】皮膚壊死モデルにおける阻害性抗黄色ブドウ球菌（Ｓ．ａｕｒｅｕｓ）α毒素ｍＡｂによる受動免疫化の結果を示す。５匹のＢＡＬＢ／ｃマウスの群を５ｍｇ／ｋｇの阻害性ｍＡｂで免疫し、次に黄色ブドウ球菌（Ｓ．ａｕｒｅｕｓ）Ｗｏｏｄ株に感染させ、病変のサイズを６日間モニタした。図３Ｂは、感染の時間経過に伴う病変サイズの低下をグラフで示す。実験の詳細及び結果は実施例４に記載する。
【図４】図４－７では肺炎モデルにおいて本明細書に記載される様々なｍＡｂで受動免疫したマウスの生存をグラフで示す。図４は、５、１５及び４５ｍｇ／ｋｇの精製１２Ｂ８．１９で受動免疫した２４時間後に黄色ブドウ球菌（Ｓ．ａｕｒｅｕｓ）ＵＳＡ３００株（3×10^{8} ｃｆｕ）に感染させたＣ５７ＢＬ／６Ｊマウスの結果を示す。
【図５】５、１５及び４５ｍｇ／ｋｇの精製２Ａ３．１で受動免疫した２４時間後に黄色ブドウ球菌（Ｓ．ａｕｒｅｕｓ）ＵＳＡ３００株（3×10^{8} ｃｆｕ）に感染させたＣ５７ＢＬ／６Ｊマウスの結果を示す。
【図６】５、１５及び４５ｍｇ／ｋｇの精製２８Ｆ６．１で受動免疫した２４時間後に黄色ブドウ球菌（Ｓ．ａｕｒｅｕｓ）ＵＳＡ３００株（3×10^{8} ｃｆｕ）に感染させたＣ５７ＢＬ／６Ｊマウスの結果を示す。
【図７】５、１５及び４５ｍｇ／ｋｇの精製１０Ａ７．５で受動免疫した２４時間後に黄色ブドウ球菌（Ｓ．ａｕｒｅｕｓ）ＵＳＡ３００株（3×10^{8} ｃｆｕ）に感染させたＣ５７ＢＬ／６Ｊマウスの結果を示す。実験の詳細及び結果は実施例５に記載する。
【図８Ａ】完全ヒト型のｍＡｂ　２Ａ３．１（例えば２Ａ３ｈｕ）又はアイソタイプ対照（Ｒ３４７）で受動免疫したマウスにおける肺（図８Ａ）の細菌分布をグラフで示す。Ｃ５７ＢＬ／６Ｊマウスは２Ａ３ｈｕ（１５ｍｇ／ｋｇ）で受動免疫し、２４時間後にＵＳＡ３００株に感染させた。また試料を採取してサイトカイン値を計測し、病理組織学的分析を行った。実験の詳細及び結果は実施例５に記載する。
【図８Ｂ】完全ヒト型のｍＡｂ　２Ａ３．１（例えば２Ａ３ｈｕ）又はアイソタイプ対照（Ｒ３４７）で受動免疫したマウスにおける腎臓（図８Ｂ）の細菌分布をグラフで示す。Ｃ５７ＢＬ／６Ｊマウスは２Ａ３ｈｕ（１５ｍｇ／ｋｇ）で受動免疫し、２４時間後にＵＳＡ３００株に感染させた。また試料を採取してサイトカイン値を計測し、病理組織学的分析を行った。実験の詳細及び結果は実施例５に記載する。
【図９】ｍＡｂ　２Ａ３ｈｕによる受動免疫化後の炎症性サイトカイン産生の低下をグラフで示す。丸で囲んだ結果が、２４時間の時間点の結果である。実験の詳細及び結果は実施例６に記載する。
【図１０】Ｒ３４７対照で処置したマウス（図１０の左上及び左下の写真を参照）又は２Ａ３ｈｕで処置したマウス（図１０の右上及び右下の写真を参照）における肺組織像の代表的な写真を示す。実験の詳細及び結果は実施例６に記載する。
【図１１】本明細書に記載される抗ＡＴ（黄色ブドウ球菌（Ｓ．ａｕｒｅｕｓ）α毒素）ｍＡｂは天然のα毒素（ｎＡＴ）がウサギ赤血球ゴーストに存在する受容体と結合するのを阻害しないことをグラフで示す。実験の詳細及び結果は実施例８に記載する。
【図１２】本明細書に記載される抗体によるヘプタマー形成の阻害を示す代表的なウエスタンブロットである。実験の詳細及び結果は実施例８に記載する。
【図１３】本明細書に記載される抗ＡＴ　ｍＡｂによるオリゴマー形成の阻害を裏付ける代表的なウエスタンブロットを示し、さらに、その阻害力価を測定し得ることを示す。実験の詳細及び結果は実施例８に記載する。

【図１４】図１４－１６では細胞溶解阻害アッセイにおける完全ヒト抗ＡＴ抗体の力価をグラフで示す。完全ヒト型の抗ＡＴ　ＩｇＧ抗体は、対応するキメラ抗ＡＴ　ＩｇＧ抗体と同程度の力価を示す。完全ヒトＩｇＧ抗体の阻害活性を、ウサギＲＢＣ（赤血球細胞）溶解（図１４）においてキメラＩｇＧ抗体と比較した。実験の詳細及び結果は実施例９に記載する。

【図１５】細胞溶解阻害アッセイにおける完全ヒト抗ＡＴ抗体の力価をグラフで示す。完全ヒト型の抗ＡＴ　ＩｇＧ抗体は、対応するキメラ抗ＡＴ　ＩｇＧ抗体と同程度の力価を示す。完全ヒトＩｇＧ抗体の阻害活性を、Ａ５４９細胞溶解（図１５）においてキメラＩｇＧ抗体と比較した。実験の詳細及び結果は実施例９に記載する。

【図１６】細胞溶解阻害アッセイにおける完全ヒト抗ＡＴ抗体の力価をグラフで示す。完全ヒト型の抗ＡＴ　ＩｇＧ抗体は、対応するキメラ抗ＡＴ　ＩｇＧ抗体と同程度の力価を示す。完全ヒトＩｇＧ抗体の阻害活性を、ＴＨＰ－１細胞溶解（図１６）においてキメラＩｇＧ抗体と比較した。実験の詳細及び結果は実施例９に記載する。

【図１７】皮膚壊死モデルにおける阻害性抗黄色ブドウ球菌（Ｓ．ａｕｒｅｕｓ）α毒素ｍＡｂ　ＱＤ２０、ＱＤ３７、ＬＣ１０、ＱＤ３３、２Ａ３及び対照Ｒ３４７による受動免疫化後の感染の時間経過に伴う病変サイズの低下をグラフで示す。５匹のＢＡＬＢ／ｃマウスの群を、示される１ｍｇ／ｋｇ（図１７Ａ）及び０．５ｍｇ／ｋｇ（図１７Ｂ）の阻害性ｍＡｂで受動免疫し、次に黄色ブドウ球菌（Ｓ．ａｕｒｅｕｓ）Ｗｏｏｄ株に感染させ、病変のサイズを６日間モニタした。

【図１８】肺炎モデルにおけるｍＡｂ　ＱＤ２０、ＱＤ３７、ＬＣ１０、ＱＤ３３、２Ａ３及び対照Ｒ３４７で受動免疫したマウスの生存をグラフで示す。マウスは、５ｍｇ／ｋｇの精製ｍＡｂで受動免疫し、２４時間後に黄色ブドウ球菌（Ｓ．ａｕｒｅｕｓ）ＵＳＡ３００株（約2×10^{8}ｃｆｕ）に感染させた。

【図１９】α毒素及びＬｕｋＦ－ＰＶに対するＬＣ１０　ＹＴＥの結合のＥＬＩＳＡによる特性決定をグラフで示す。Ｈｉｓタグ付きα毒素又はＬｕｋＦ－ＰＶを含む細菌ライセートを９６ウェルの表面にコーティングした。コーティングしたウェルにＬＣ１０　ＹＴＥ又はマウス抗Ｈｉｓ　ｍＡｂを添加し、１時間インキュベートした。抗Ｈｉｓ　ｍＡｂの結合シグナルによって示されるとおり、α毒素及びＬｕｋＦ－ＰＶの発現レベルは同程度であったが、ＬＣ１０　ＹＴＥはα毒素のみに著しく結合し、ＬｕｋＦ－ＰＶにはあまり結合しなかった。

【図２０】α毒素タンパク質及びＬｕｋＦ－ＰＶタンパク質の配列アラインメントを示す。α毒素はＬｕｋＦ－ＰＶ（ＵｎｉＰｒｏｔＫＢ／ＴｒＥＭＢＬ　受託番号Ｂ１Ｑ０１８）と２５％のアミノ酸配列同一性を共有する。アミノ酸の付番は成熟タンパク質に基づく。アラインメントはＣｌｕｓｔａｌ　Ｗの方法を用いて実施した。セグメントａａ２４８～２７７を下線で強調している。

【図２１】α毒素構造の略画を示す。Ａ）α毒素の可溶性モノマーをモデル化した構造の略画。α毒素のモデル化したモノマー構造は、Ｍａｅｓｔｒｏ　９．１（Ｓｃｈｒｏｄｉｎｇｅｒ　Ｉｎｃ）により、鋳型としてＬｕｋＦ－ＰＶ（プロテインデータバンク（Ｐｒｏｔｅｉｎ　Ｄａｔａ　Ｂａｎｋ）エントリ１ＰＶＬ）の結晶構造を使用して構築した（Ｐｅｄｅｌａｃｑ，Ｍａｖｅｙｒａｕｄ　ｅｔ　ａｌ．１９９９）。Ｂ）ヘキサマー（プロテインデータバンク（Ｐｒｏｔｅｉｎ　Ｄａｔａ　Ｂａｎｋ）エントリ７ＡＨＬ）からのα毒素プロトマーの結晶構造の略画（Ｓｏｎｇ，Ｈｏｂａｕｇｈ　ｅｔ　ａｌ．１９９６）。ａａ１０１～１１０は青色で示し、ａａ２２４～２３１はオレンジ色で示し、及びａａ２４８～２７７は赤色で示す。

【図２２】ＬＣ１０　ＹＴＥ　Ｆａｂ－α毒素複合体のリボン図である。α毒素分子は図の上部にリボンによって示される。重鎖は図の下部に濃い色のリボンによって示され、及び軽鎖は図の下部に薄い色のリボンによって示される。

【図２３】ヘプタマー状態及びモノマー状態のα毒素分子の略画である。ａ．宿主細胞の表面上に孔を作り出すα毒素分子のキノコ状ヘプタマー集合体。灰色及び黒色の領域が、このモデルでは遮蔽されているＬＣ１０　ＹＴＥ接触残基に対応する。遮蔽された位置に

存在している接触残基は、一貫してＬＣ１０を遮断するヘプタマー構成である。ｂ．膜孔形成の前（薄い灰色）と後（濃い灰色）とを重ね合わせたα毒素分子構造。
【図２４】マウス皮膚壊死モデルにおけるＬＣ１０の治療効力をグラフで示す。５匹のＢａｌｂ／Ｃマウスの群を１５ｍｇ／ｋｇのＬＣ１０又はＲ３４７で受動免疫し、Ｂａｌｂ／Ｃマウスに２×１０^{8}個の黄色ブドウ球菌（Ｓ．ａｕｒｅｕｓ）Ｗｏｏｄ株を鼻腔内感染させた。次に、感染の（Ａ）１時間後、（Ｂ）３時間後又は（Ｃ）６時間後にマウスを５、１５又は４５ｍｇ／ｋｇのＬＣ１０で処置し、病変のサイズを６日間モニタした。細菌攻撃の２４時間前に１５ｍｇ／ｋｇのＬＣ１０又はＲ３４７を投与した５匹の群を対照として含めた。
【図２５】マウス肺炎モデルにおけるＬＣ１０の治療効力をグラフで示す。１０匹のＣ５７ＢＬ／６マウスの群を１５ｍｇ／ｋｇのＬＣ１０又はＲ３４７で受動免疫し、２４時間後に２×１０^{8}個の黄色ブドウ球菌（Ｓ．ａｕｒｅｕｓ）ＵＳＡ３００株で鼻腔内攻撃した。１０匹のＣ５７ＢＬ／６マウスの群に２×１０^{8}個の黄色ブドウ球菌（Ｓ．ａｕｒｅｕｓ）ＵＳＡ３００株を鼻腔内感染させた。次に、感染の（Ａ）１時間後、（Ｂ）３時間後又は（Ｃ）６時間後にマウスを５、１５又は４５ｍｇ／ｋｇのＬＣ１０で処置し、生存を７日間モニタした。細菌攻撃の２４時間前に１５ｍｇ／ｋｇのＬＣ１０又はＲ３４７を投与した１０匹の群を対照として含めた。
【図２６】マウス肺炎モデルにおけるＬＣ１０の治療効力をグラフで示す。１０匹のＣ５７ＢＬ／６マウスの群に２×１０^{8}個の黄色ブドウ球菌（Ｓ．ａｕｒｅｕｓ）ＵＳＡ３００株を皮内感染させた。感染１時間後、動物に（Ａ）１５ｍｇ／ｋｇ（Ｂ）４５ｍｇ／ｋｇのＬＣ－１０の単回腹腔内注射を投与した。動物のコホート群に、感染１時間後にバンコマイシン（ＶＡＮ）を皮下投与した。さらなるＶＡＮ処置をＢＩＤ　ｑ１２で合計６処置投与した。１０匹のマウスの対照群は、感染１時間後に１５ｍｇ／ｋｇのＲ３４７で処置した。生存を７日間モニタした。
【図２７】相乗作用のアイソボログラム分析のグラフ図であり、ここでＮ＞１：拮抗作用、Ｎ＝１：相加効果、Ｎ＜１：相乗作用。
【発明を実施するための形態】
【００４４】
本明細書には、黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ａｕｒｅｕｓ）α毒素に結合する、ヒト型、ヒト化型及び／又はキメラ型を含む抗体、並びにその断片、誘導体／コンジュゲート及び組成物が提供される。かかる抗体は、α毒素の検出及び／又は可視化に有用であり得るため、従ってアッセイ及び診断方法に有用となり得る。本明細書に記載される抗体はまた、α毒素のヘプタマー形成を妨害し、それにより活性な膜孔形成複合体の形成を阻害するため、従って治療法及び予防法に有用であり得る。
【００４５】
黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ａｕｒｅｕｓ）は遍在性の病原体であり、ときに、重症度の範囲が軽度から致死的に至るまでの様々な病態の原因菌である。黄色ブドウ球菌（Ｓ．ａｕｒｅｕｓ）は多数の細胞外タンパク質及び細胞関連タンパク質を産生し、α毒素、β毒素、γ毒素、δ毒素、ロイコシジン、毒素性ショック症候群毒素（ＴＳＳＴ）、エンテロトキシン、コアグラーゼ、プロテインＡ、フィブリノゲン、フィブロネクチン結合タンパク質など、その多くが発病機序に関与する。α毒素（例えば、ｈｌａ遺伝子によりコードされる）は、黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ａｕｒｅｕｓ）のビルレンス因子の一つであり、大多数の病原性黄色ブドウ球菌（Ｓ．ａｕｒｅｕｓ）株により産生される。
【００４６】
黄色ブドウ球菌（Ｓ．ａｕｒｅｕｓ）感染は比較的治療が困難な侵襲性疾患であり、抗生物質治療後に再燃が起こり得る。加えて、メチシリン耐性黄色ブドウ球菌（Ｓ．ａｕｒｅｕｓ）株が、病院環境で（例えば、ＨＡ－ＭＲＳＡ、すなわち医療関連性）、及び非病院環境外で（例えば、ＣＡ－ＭＲＳＡ、すなわち市中関連性）蔓延するようになっており、黄色ブドウ球菌（Ｓ．ａｕｒｅｕｓ）感染症の治療はさらに複雑化している。多くの場

合、黄色ブドウ球菌（Ｓ．ａｕｒｅｕｓ）のメチシリン耐性株は、アミノグリコシド、テトラサイクリン、クロラムフェニコール、マクロライド及びリンコサミドを含む１つ以上の他の抗生物質に対しても耐性を示す。

【００４７】

α毒素は膜孔形成毒素であり、ヒト並びに動物において細胞溶解、溶血、皮膚壊死及び致死の活性を有する。ブドウ球菌α毒素は、約３４キロダルトン（ｋＤａ）の、２９３アミノ酸の水溶性単鎖ポリペプチドとして分泌される。理論によって制限されるものではないが、α毒素／標的細胞相互作用には２つの方法があると考えられる；（ｉ）α毒素が、ヒト血小板、単球、内皮細胞、白血球細胞、肺胞細胞、マクロファージ、ケラチノサイト、線維芽細胞、ウサギ赤血球、及び他の細胞の細胞表面上の特異的な高親和性受容体（ＡＤＡＭ　１０）に結合する（例えば、Ｗｉｌｋｅ　ｅｔ　ａｌ．，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．１０７：１３４７３－１３４７８（２０１０）を参照）、又は（ｉｉ）α毒素が脂質二重層に対して吸着により非特異的に相互作用する。いずれの毒素／細胞相互作用様式においても、７個のα毒素モノマー分子がオリゴマー化して直径１～２ｎｍのヘプタマーの膜貫通チャネルを形成する。続くカリウム及びヌクレオチドの流出並びにナトリウム及びカルシウムの流入により、浸透圧溶解及び／又は複数の二次作用、例えば、エイコサノイド産生、分泌過程、収縮不全、アポトーシス及びサイトカイン放出が生じる。このα毒素による細胞活性の破壊及び細胞の溶解が、黄色ブドウ球菌（Ｓ．ａｕｒｅｕｓ）感染に関連する病態及び疾患に関与すると考えられる。

【００４８】

黄色ブドウ球菌（Ｓ．ａｕｒｅｕｓ）感染により引き起こされるいくつかの一般的な病態の非限定的な例としては、火傷、蜂巣炎、皮膚壊死、眼瞼感染症、食中毒、関節感染、肺炎、皮膚感染、手術創感染、熱傷様皮膚症候群及び毒素性ショック症候群が挙げられる。加えて、黄色ブドウ球菌（Ｓ．ａｕｒｅｕｓ）は、血管内ライン、ペースメーカー、人工心臓弁及び関節インプラントなどの異物感染症において高頻度にみられる病原菌である。黄色ブドウ球菌（Ｓ．ａｕｒｅｕｓ）により引き起こされる病態又は疾患のいくつかを、以下にさらに記載する。以下に記載する病態及び疾患の一部又は全てが、感染の一要素又は病態若しくは疾患状態の介在因子としてα毒素の直接的な作用を伴い得るか、又は病態の一部又は全てが、α毒素の間接的又は二次的な作用を伴い得る（例えば、一次ビルレンス因子が主症状又は病態に関連する症状の大半を引き起こし、及びα毒素が、その細胞機能の破壊及び細胞溶解活性によって、疾患をさらに進行させるように作用する）。

【００４９】

火傷

熱傷創は、初めは無菌であることが多い。しかしながら中等度及び重度の火傷では、概して感染に対する身体及び免疫のバリアが損なわれ（例えば、水疱形成、皮膚のひび割れ又は剥離）、体液及び電解質の喪失が生じ、局所的な又は全身の生理学的機能不全が起こる。易感染性の皮膚が生菌と接触すると、ときに傷害部位に混合性コロニーが形成され得る。感染は火傷表面上の生育不能な壊死組織片（「痂皮」）に限定されていることもあれば、又はコロニー形成が全面的な皮膚感染に進行して痂皮下の生組織に侵入することもある。より重度の感染は皮下に達してリンパ系及び／又は血液循環に入り込み、敗血症を生じ得る。熱傷創感染に生着する病原菌のなかで、黄色ブドウ球菌（Ｓ．ａｕｒｅｕｓ）は典型的に見られる。黄色ブドウ球菌（Ｓ．ａｕｒｅｕｓ）は肉芽組織を破壊し、重度の敗血症を引き起こし得る。

【００５０】

皮膚及び軟部組織感染

蜂巣炎

蜂巣炎は、多くの場合に表在性感染として始まり、それが皮膚層下まで広がり得る皮膚の急性感染症である。蜂巣炎は、最も一般的には、黄色ブドウ球菌（Ｓ．ａｕｒｅｕｓ）とＳ．ピオゲネス（Ｓ．ｐｙｏｇｅｎｅｓ）との混合感染により引き起こされる。蜂巣炎は全身感染症を引き起こし得る。蜂巣炎はときに相乗性細菌性壊疽の一態様である。相乗

性細菌性壊疽は、典型的には黄色ブドウ球菌（Ｓ．ａｕｒｅｕｓ）と微好気性レンサ球菌との混合により引き起こされる。相乗性細菌性壊疽は壊死を引き起こし、治療は壊死組織の切除に限られている。その病態は多くの場合に致死的である。

【００５１】

皮膚壊死

皮膚壊死は皮膚及び皮下組織の感染であり、皮下組織内の筋膜面全面に広がり易い。この病態により皮膚の上層及び／又は下層が壊死状態となり、病態は下部及び周囲組織まで広がり得る。

【００５２】

壊死性筋膜炎

壊死性筋膜炎は、「人食い病」又は「人食いバクテリア症」と称される。壊死性筋膜炎は複数菌感染により引き起こされることも（例えばＩ型、混合細菌感染により引き起こされる）、又は単一菌感染により引き起こされることもある（例えばＩＩ型、単一の病原菌株により引き起こされる）。多くの種類の細菌が壊死性筋膜炎を引き起こすことができ、その非限定的な例としては、Ａ群レンサ球菌（例えば、ストレプトコッカス・ピロゲンス（Ｓｔｒｅｐｔｏｃｏｃｃｕｓ　ｐｙｒｏｇｅｎｅｓ）、黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ａｕｒｅｕｓ）、ビブリオ・バルニフィカス（Ｖｉｂｒｉｏ　ｖｕｌｎｉｆｉｃｕｓ）、クロストリジウム・パーフリンゲンス（Ｃｌｏｓｔｒｉｄｉｕｍ　ｐｅｒｆｒｉｎｇｅｎｓ）、及びバクテロイデス・フラギリス（Ｂａｃｔｅｒｏｉｄｅｓ　ｆｒａｇｉｌｉｓ）が挙げられる。免疫系の低下又は不全を有する個体は皮膚壊死（例えば壊死性筋膜炎）を起こし易い。

【００５３】

歴史的には、ＩＩ型皮膚壊死性感染症例の大多数の原因としてＡ群レンサ球菌が診断された。しかしながら、２００１年以降、メチシリン耐性黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ａｕｒｅｕｓ）（ＭＲＳＡ）が一種細菌性の壊死性筋膜炎の原因として観察されることが次第に増えてきた。この感染は局所的に、ときに外傷部位で始まり、重度であることも（手術の結果など）、軽度であることも、又はさらには非顕性であることもある。患者は通常激痛を訴え、これは皮膚の外観を考えると度を越しているように見え得る。疾患が進行するにつれ、多くの場合に数時間以内には組織が腫脹するようになる。下痢及び嘔吐もまた一般的な症状である。

【００５４】

細菌が組織内に深在する場合、感染初期には炎症の徴候は明らかでないこともある。細菌が深在性でない場合、発赤及び腫脹した又は熱をもった皮膚などの炎症の徴候が極めて急速に現れる。皮膚が紫色に変色することもあり、水疱が形成され、続いて皮下組織の壊死（例えば死）が伴い得る。壊死性筋膜炎患者は、典型的には発熱があり、極めて病的に見える。治療せずに放置すれば、死亡率は７３パーセントもの高さであることが認められている。適切な医学的手当てを受けなければ、感染は急速に進行し、最終的には死亡に至る。

【００５５】

肺炎

黄色ブドウ球菌（Ｓ．ａｕｒｅｕｓ）はまた、ブドウ球菌性肺炎の原因としても診断されている。ブドウ球菌肺炎は肺の炎症及び腫大を引き起こし、それによって次には体液が肺に集まる。肺における体液貯留は血流への酸素の流入を妨げ得る。インフルエンザ罹患者は、細菌性肺炎の発症リスクがある。インフルエンザに既に罹患している者において、黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ａｕｒｅｕｓ）は細菌性肺炎の最も一般的な原因である。ブドウ球菌肺炎の一般的な症状としては、咳嗽、呼吸困難、及び発熱が挙げられる。さらなる症状としては、疲労、黄色又は血性粘液、及び呼吸によって悪化する胸痛が挙げられる。ブドウ球菌性肺炎で同定される株としてメチシリン耐性黄色ブドウ球菌（Ｓ．ａｕｒｅｕｓ）（ＭＲＳＡ）が診断されることが増えつつある。

【００５６】

手術創感染

手術創は、多くの場合に体に深達する。従って創傷が感染した場合には、かかる創傷の感染が患者にとって重大なリスクとなる。黄色ブドウ球菌（Ｓ．ａｕｒｅｕｓ）は高頻度で手術創の感染原因となる病原体である。黄色ブドウ球菌（Ｓ．ａｕｒｅｕｓ）は手術創に異常なほど巧妙に侵入し、縫合創は、正常な皮膚に感染を引き起こすのに必要なよりもはるかに少数の黄色ブドウ球菌（Ｓ．ａｕｒｅｕｓ）細胞でも感染を起こし得る。手術創に侵入すると、重度の黄色ブドウ球菌（Ｓ．ａｕｒｅｕｓ）敗血症が起こり得る。黄色ブドウ球菌（Ｓ．ａｕｒｅｕｓ）が血流内に侵入すると、内臓器官、特に心臓弁及び骨への播種及び感染が起こり、心内膜炎及び骨髄炎などの全身性疾患が生じ得る。

【００５７】

熱傷様皮膚症候群

黄色ブドウ球菌（Ｓ．ａｕｒｅｕｓ）は、「ブドウ球菌性熱傷様皮膚症候群」、「中毒性表皮壊死症」、「限局性水疱性膿痂疹」、「リッター病」及び「ライエル病」とも称される「熱傷様皮膚症候群」の、原因病原体ではないにしても、その主要な原因病原体であると思われる。熱傷様皮膚症候群は、高頻度でより年長の小児に起こり、典型的には表皮層内において剥離を引き起こす表皮溶解性エキソトキシン（例えば、熱傷様皮膚症候群毒素と称されることもある表皮剥脱素Ａ及びＢ）を産生する黄色ブドウ球菌（Ｓ．ａｕｒｅｕｓ）株の盛染により大発生する。エキソトキシンのあるものは細菌染色体によりコードされ、他のものはプラスミドによりコードされる。これらのエキソトキシンは、通常皮膚の顆粒層と有棘層とを一体に保持しているデスモグレイン１を切断するプロテアーゼである。

【００５８】

細菌は、初めは軽度の損傷にのみ感染し得るが、しかしながら、毒素が細胞間結合を破壊し、表皮層に広がり、皮膚外層への感染の侵入を許すことで、この疾患を典型的に表す落屑が生じる。皮膚外層の脱落により、概して下の正常な皮膚が現れるが、この過程で体液が失われると、適切に治療されない場合には、低年齢の小児において重度の傷害が生じ得る。

【００５９】

毒素性ショック症候群

毒素性ショック症候群（ＴＳＳ）は、いわゆる「毒素性ショック症候群毒素」を産生する黄色ブドウ球菌（Ｓ．ａｕｒｅｕｓ）株によって引き起こされる。この疾患は、任意の部位において黄色ブドウ球菌（Ｓ．ａｕｒｅｕｓ）感染により引き起こされ得るが、専らタンポンを使用する女性に限定的な疾患としてしばしば誤って認識されている。この疾患は毒血症及び敗血症を伴い、致死的となり得る。

【００６０】

毒素性ショック症候群の症状は、根底にある原因によって様々である。細菌の黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ａｕｒｅｕｓ）の感染によって起こるＴＳＳは典型的には、他の点では健康な高熱を有する個体に発症し、低血圧、倦怠及び錯乱を伴い、これは急速に昏迷、昏睡、及び多臓器不全に進行し得る。病気の経過の初期に多く見られる特徴的な発疹は日焼けに似ており、唇、口、眼、手掌及び足底を含む体の任意の範囲が関与し得る。感染の初期の猛攻撃を生き延びる患者では、１０～１４日後にこの発疹が落屑、すなわち剥離する。

【００６１】

上述のとおり、黄色ブドウ球菌（Ｓ．ａｕｒｅｕｓ）の多剤耐性株の増加に起因して、黄色ブドウ球菌（Ｓ．ａｕｒｅｕｓ）感染の治療に一般的に用いられる抗生物質のますます多くが、もはやメチシリン耐性及び多剤耐性黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ａｕｒｅｕｓ）の感染を制御又は除去しなくなりつつある。本明細書に記載される黄色ブドウ球菌（Ｓ．ａｕｒｅｕｓ）α毒素に対する抗体は、感染の重症度を低下させることに役立ち得るとともに、感染宿主由来の病原性黄色ブドウ球菌（Ｓ．ａｕｒｅｕｓ）の除去、防御（予防的）又は低減も促進し得る。

【００６２】
抗体
本明細書で使用されるとき、用語「抗体（ａｎｔｉｂｏｄｙ）」、「抗体（ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ）」（免疫グロブリンとしても知られる）及び「抗原結合断片」は、モノクローナル抗体（完全長モノクローナル抗体を含む）、ポリクローナル抗体、少なくとも２つの異なるエピトープ結合断片から形成される多特異性抗体（例えば、二重特異性抗体）、ヒト抗体、ヒト化抗体、ラクダ科動物抗体、キメラ抗体、単鎖Ｆｖ（ｓｃＦｖ）、一本鎖抗体、単一ドメイン抗体、ドメイン抗体、Ｆａｂ断片、Ｆ（ａｂ’）２断片、所望の生物活性を呈する抗体断片（例えば抗原結合部分）、ジスルフィド結合Ｆｖ（ｄｓＦｖ）、及び抗イディオタイプ（抗Ｉｄ）抗体（例えば、本明細書に提供される抗体に対する抗Ｉｄ抗体を含む）、細胞内抗体、及び上記の任意のエピトープ結合断片を包含する。特に、抗体には、免疫グロブリン分子及び免疫グロブリン分子の免疫学的に活性な断片、すなわち少なくとも１つの抗原結合部位を含む分子が含まれる。免疫グロブリン分子は、任意のアイソタイプ（例えば、ＩｇＧ、ＩｇＥ、ＩｇＭ、ＩｇＤ、ＩｇＡ及びＩｇＹ）、サブアイソタイプ（例えば、ＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３、ＩｇＧ４、ＩｇＡ１及びＩｇＡ２）又はアロタイプ（例えば、Ｇｍ、例えば、Ｇ１ｍ（ｆ、ｚ、ａ又はｘ）、Ｇ２ｍ（ｎ）、Ｇ３ｍ（ｇ、ｂ、又はｃ）、Ａｍ、Ｅｍ、及びＫｍ（１、２又は３））であってよい。抗体は、限定はされないが、ヒト、サル、ブタ、ウマ、ウサギ、イヌ、ネコ、マウスなどを含む任意の哺乳動物、又は鳥類（例えばニワトリ）などの他の動物に由来し得る。
【００６３】
自然抗体は、概して約１５０，０００ダルトンのヘテロ四量体の糖タンパク質であり、２つの同一の軽（Ｌ）鎖と２つの同一の重（Ｈ）鎖とから構成される。各軽鎖は、１つの共有結合性のジスルフィド結合によって重鎖に連結しているが、ジスルフィド結合の数はそれぞれの免疫グロブリンアイソタイプの重鎖で異なる。重鎖及び軽鎖の各々はまた、規則的な間隔の鎖内ジスルフィド架橋も有する。各重鎖は一端に可変ドメイン（ＶＨ）を有し、その後に複数の定常ドメイン（ＣＨ）が続く。各軽鎖は一端に可変ドメイン（ＶＬ）を有し、その他端に定常ドメイン（ＣＬ）を有する。軽鎖の定常ドメインは重鎖の第１の定常ドメインと整列し、軽鎖可変ドメインは重鎖の可変ドメインと整列する。軽鎖は、軽鎖定常領域のアミノ酸配列に基づきλ鎖又はκ鎖に分類される。κ軽鎖の可変ドメインは、本明細書ではＶＫとも表記され得る。
【００６４】
本明細書に提供される抗体には、完全長の又はインタクトな抗体、抗体断片、天然配列抗体又はアミノ酸変異体、ヒト抗体、ヒト化抗体、翻訳後修飾された抗体、キメラ抗体又は融合抗体、イムノコンジュゲート、及びその機能的断片が含まれる。抗体はＦｃ領域で修飾されてもよく、特定の修飾が所望のエフェクター機能又は血清中半減期を提供し得る。
【００６５】
本抗α毒素抗体及び断片の１つ以上の生物学的特性（例えば、力価、α毒素親和性、エフェクター機能、オルソログ結合親和性、中和、α毒素ヘプタマー形成の阻害など）を有する抗体も企図される。抗α毒素抗体及び断片は、上記に記載したとおり、哺乳動物における黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ａｕｒｅｕｓ）関連疾患の１つ以上の症状の診断及び／又は治療及び／又は緩和及び／又は予防に使用することができる。
【００６６】
本明細書には、抗α毒素抗体又は断片と担体とを含む組成物が提供される。黄色ブドウ球菌（Ｓ．ａｕｒｅｕｓ）関連疾患の治療を目的として、かかる治療を必要とする患者に組成物を投与することができ、ここで組成物は１つ以上の抗α毒素抗体及び／又はその断片を含み得る。また、本明細書に提供されるとおりの抗α毒素抗体又はその断片と担体とを含む製剤も提供される。一部の実施形態では、製剤は、薬学的に許容可能な担体を含む予防製剤又は治療製剤である。
【００６７】

特定の実施形態では、本明細書に提供される方法は、哺乳動物における黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ａｕｒｅｕｓ）関連及び／又はα毒素関連疾患／病態の治療及び／又はそのような疾患又は病態の１つ以上の症状の予防及び／又は緩和に有用であり、治療有効量の抗α毒素抗体又は断片を哺乳動物に投与するステップを含む。抗体予防組成物又は治療組成物は医師の指示により短期（急性）投与、慢性投与、又は間欠投与され得る。

【００６８】

特定の実施形態では、製品は少なくとも抗α毒素抗体又は断片を、無菌剤形及び／又はキットなどに含む。抗α毒素抗体又は断片を含むキットは、例えば、黄色ブドウ球菌（Ｓ．ａｕｒｅｕｓ）細胞死滅アッセイ、細胞からのα毒素の精製又は免疫沈降に用途が見出され得る。例えば、α毒素の単離及び精製用に、キットは、ビーズ（例えば、セファロースビーズ）に結合された抗α毒素抗体又は断片を含み得る。キットは、インビトロでの、例えばＥＬＩＳＡ又はウエスタンブロットにおける、黄色ブドウ球菌（Ｓ．ａｕｒｅｕｓ）及び／又はα毒素の検出及び定量化用抗体を含んでもよい。検出に有用なかかる抗体は、蛍光標識又は放射標識などの標識と共に提供され得る。

【００６９】

用語

本明細書に提供される方法は特定の組成物又は方法ステップに限定されるものではなく、従って異なり得ることが理解されるべきである。本明細書及び添付の特許請求の範囲で使用されるとき、単数形「ａ」、「ａｎ」及び「ｔｈｅ」は、文脈上特に明確に指示されない限り、単数及び複数の指示対象を含むことが注記される。

【００７０】

α毒素ポリペプチド（例えばα毒素モノマー）と特異的に結合する単離抗体、又はその抗原結合断片は、本明細書において、単数形では「抗α毒素抗体又は断片（ａｎｔｉ－ａｌｐｈａ　ｔｏｘｉｎ　ａｎｔｉｂｏｄｙ　ｏｒ　ｆｒａｇｍｅｎｔ）」及び複数形では「抗α毒素抗体及び断片（ａｎｔｉ－ａｌｐｈａ　ｔｏｘｉｎ　ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ　ａｎｄ　ｆｒａｇｍｅｎｔｓ）」と称される。α毒素ポリペプチドは、ときにα溶血素と称される。α毒素は、オリゴマー化してヘプタマーになった後、細胞膜に孔を形成し、ここでこのオリゴマー化したポリペプチドは、ときに「α毒素膜孔」、又は「α毒素ヘプタマー」と総称される。

【００７１】

アミノ酸は、多くの場合に、本明細書では、ＩＵＰＡＣ－ＩＵＢ生化学命名法委員会（Ｂｉｏｃｈｅｍｉｃａｌ　Ｎｏｍｅｎｃｌａｔｕｒｅ　Ｃｏｍｍｉｓｓｉｏｎ）により推奨される一般に周知の３文字記号又は１文字記号により参照される。同様にヌクレオチドも、多くの場合に、一般に認められている１文字コードにより参照される。

【００７２】

抗体の可変ドメイン、相補性決定領域（ＣＤＲ）及びフレームワーク領域（ＦＲ）におけるアミノ酸の付番は、特に指示されない限り、Ｋａｂａｔ　ｅｔ　ａｌ．，Ｓｅｑｕｅｎｃｅｓ　ｏｆ　Ｐｒｏｔｅｉｎｓ　ｏｆ　Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｉｃａｌ　Ｉｎｔｅｒｅｓｔ，５ｔｈ　Ｅｄ．Ｐｕｂｌｉｃ　Ｈｅａｌｔｈ　Ｓｅｒｖｉｃｅ，Ｎａｔｉｏｎａｌ　Ｉｎｓｔｉｔｕｔｅｓ　ｏｆ　Ｈｅａｌｔｈ，Ｂｅｔｈｅｓｄａ，Ｍａｒｙｌａｎｄ．（１９９１）に記載されるとおりのカバットの定義に従う。この付番方式を使用すると、実際の直鎖状アミノ酸配列に含まれるアミノ酸は、可変ドメインのＦＲ又はＣＤＲの短縮又はそこへの挿入に対応して少なくなり得るか、又は多くなり得る。例えば、重鎖可変ドメインは、Ｈ２の残基５２位の後に単一のアミノ酸挿入（カバットに従えば残基５２ａ）と、重鎖ＦＲ残基８２位の後に挿入された残基（カバットに従えば、例えば残基８２ａ、８２ｂ、及び８２ｃ等）とを含み得る。残基のカバット付番は、所与の抗体について、抗体の配列の相同性領域における「標準的な」カバット付番配列とのアラインメントにより決定され得る。フレームワーク残基の最大のアラインメントには、付番方式に、Ｆｖ領域に用いられる「スペーサー」残基の挿入が必要となることが多くある。加えて、所与のカ

バット部位番号における特定の個別的な残基の同一性は、種間又は対立遺伝子の多様性に起因して抗体鎖毎に異なり得る。

【００７３】

抗α毒素抗体及び断片

特定の実施形態では、抗α毒素抗体又は断片は単離及び／又は精製されており、及び／又はパイロジェンフリーである。用語「精製されている」は、本明細書で使用されるとき、その天然の環境の構成要素から同定され、且つ分離及び／又は回収されている目的の分子を指す。従って、一部の実施形態では、提供される抗体は精製抗体であり、ここでこの精製抗体は、その天然の環境の１つ以上の構成要素から分離されている。用語「単離抗体」は、本明細書で使用されるとき、異なる抗原特異性を有する他の抗体分子を実質的に含まない抗体を指す（例えば、α毒素に特異的に結合する単離抗体は、α毒素以外の抗原と特異的に結合する抗体を実質的に含まない）。二重特異性又は多特異性抗体分子は、他の抗体分子を実質的に含まない場合、単離抗体である。従って、一部の実施形態では、提供される抗体は単離抗体であり、ここでこのような単離抗体は、異なる特異性を有する抗体から分離されている。単離抗体はモノクローナル抗体であってもよい。しかしながら、黄色ブドウ球菌（Ｓ．ａｕｒｅｕｓ）α毒素のエピトープ、アイソフォーム又は変異体に特異的に結合する単離抗体は、例えば他の種（例えば、スタフィロコッカス（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ）種のホモログ）由来の、他の関連抗原と交差反応性を有し得る。提供されるとおりの単離抗体は、１つ以上の他の細胞物質を実質的に含まないものであり得る。一部の実施形態では、「単離」モノクローナル抗体の組み合わせが提供され、これは異なる特異性を有し、且つ定義された組成物に組み合わされる抗体に関する。抗α毒素抗体又は断片の産生及び精製／単離方法は、本明細書にさらに詳細に記載される。

【００７４】

提示される単離抗体は、本明細書に開示される抗体アミノ酸配列を含み、これは任意の好適なポリヌクレオチドによりコードされ得る。単離抗体は、ときに製剤化された形態で提供される。一部の実施形態では、抗α毒素抗体又は断片は黄色ブドウ球菌（Ｓ．ａｕｒｅｕｓ）α毒素と結合し、それによりα毒素の少なくとも１つの生物活性、例えばオリゴマー形成による活性なヘプタマーへの複合体化を、部分的に又は実質的に変化させる。

【００７５】

抗α毒素抗体又は断片は、多くの場合に、α毒素タンパク質、ペプチド、サブユニット、断片、部分、オリゴマー又はそれらの任意の組み合わせに特異的な１つ以上のエピトープに免疫特異的に結合し、概して他のポリペプチドには結合しない。用語「オリゴマー」又は「α毒素オリゴマー」は、機能的な膜孔（例えば、７個のα毒素モノマー）を形成するα毒素モノマーの会合体（例えば、２個のモノマー、３個のモノマー、４個のモノマー、５個のモノマー、６個のモノマー又は７個のモノマー）を指す。エピトープは、α毒素タンパク質の少なくとも一部分を含む少なくとも１つの抗体結合領域を含み得る。用語「エピトープ」は、本明細書で使用されるとき、抗体との結合能を有するタンパク質決定基を指す。エピトープは、概してアミノ酸及び／又は糖側鎖などの分子の化学的に活性な表面基を含み、概して特定の三次元構造特徴、並びに特定の化学的特徴（例えば、電荷、極性、塩基性、酸性、疎水性など）を有する。立体構造エピトープと非立体構造エピトープとは、変性溶媒の存在下で前者との結合が失われるのに対し、後者との結合は失われない点で区別される。一部の実施形態では、認識されたエピトープが活性なヘプタマーの形成を妨げる（例えば、α毒素モノマーのオリゴマー形成による活性なヘプタマーへの複合体化を阻害する）。

【００７６】

特定の実施形態では、エピトープはα毒素タンパク質の少なくとも一部分を含み、この一部分はα毒素ヘプタマー複合体の形成に関与する。特定のエピトープは、α毒素タンパク質の連続するアミノ酸の特定の部分全体に対して少なくとも３個のアミノ酸残基の少なくとも１つのアミノ酸配列の任意の組み合わせを含むことができる。一部の実施形態では、エピトープは、α毒素タンパク質の連続するアミノ酸の特定の部分全体に対する少なく

とも４個のアミノ酸残基、少なくとも５個のアミノ酸残基、少なくとも６個のアミノ酸残基、少なくとも７個のアミノ酸残基、少なくとも８個のアミノ酸残基、少なくとも９個のアミノ酸残基、少なくとも１０個のアミノ酸残基、少なくとも１１個のアミノ酸残基、少なくとも１２個のアミノ酸残基、少なくとも１３個のアミノ酸残基、少なくとも１４個のアミノ酸残基、又は少なくとも１５個のアミノ酸残基である。特定の他の実施形態において、エピトープは、１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４又は１５個の連続又は非連続アミノ酸残基を含む。さらなる実施形態では、エピトープ内に含まれるアミノ酸残基は、α毒素ヘプタマー複合体形成に関わる。特定の実施形態では、接触残基は、Ｔ２６１、Ｔ２６３、Ｎ２６４、Ｋ２６６及びＫ２７１を含む。他の実施形態において、接触残基は、配列番号３９のＮ１７７、Ｗ１７９、Ｇ１８０、Ｐ１８１、Ｙ１８２、Ｄ１８３、Ｄ１８５、Ｓ１８６、Ｗ１８７、Ｎ１８８、Ｐ１８９、Ｖ１９０、Ｙ１９１及びＲ２００を含む。さらなる実施形態では、接触残基は、配列番号３９のＮ１７７、Ｗ１７９、Ｇ１８０、Ｐ１８１、Ｙ１８２、Ｄ１８３、Ｄ１８５、Ｓ１８６、Ｗ１８７、Ｎ１８８、Ｐ１８９、Ｖ１９０、Ｙ１９１、Ｒ２００、Ｔ２６１、Ｔ２６３、Ｎ２６４、Ｋ２６６及びＫ２７１を含む。特定の実施形態では、抗体又はその抗原結合断片と接触するα毒素の部分は、配列番号３９のアミノ酸２６１～２７２を含む。他の実施形態において、抗体又はその抗原結合断片と接触するα毒素の部分は、配列番号３９のアミノ酸２４８～２７７を含む。他の実施形態において、抗体又はその抗原結合断片と接触するα毒素の部分は、配列番号３９のアミノ酸１７３～２０１及び２６１～２７２を含む。

【００７７】

従って、具体的な実施形態において、単離／精製抗α毒素抗体及び断片は、配列番号３９に係るアミノ酸配列を含む分子、及び／又は配列番号４０に係るアミノ酸配列を含む分子に免疫特異的に結合する。特定の実施形態では、抗α毒素抗体及び断片はまた、異なる種由来のα毒素ホモログ若しくはオルソログ、又は配列番号３９のアミノ酸配列の変異体であって、３５位のヒスチジンがロイシンに置換され、又は当業者に公知のＨ３５突然変異に対応する他のアミノ酸に置換されている変異体にも結合する。

【００７８】

可変領域

特定の実施形態では、抗α毒素抗体又は断片は親抗体から調製される。一部の実施形態では、抗α毒素抗体又は断片は親抗体の範囲内に包含される。本明細書で使用されるとき、用語「親抗体」は、本明細書において定義される変異体又は誘導体の調製に用いられるアミノ酸配列によりコードされる抗体を指す。親ポリペプチドは、自然抗体配列（すなわち、天然に存在する対立遺伝子変異体を含め、天然に存在するもの）又は天然に存在する配列の既存のアミノ酸配列修飾（他の挿入、欠失及び／又は置換など）を有する抗体配列を含み得る。親抗体はヒト化抗体又はヒト抗体であってもよい。具体的な実施形態において、抗α毒素抗体及び断片は親抗体の変異体である。本明細書で使用されるとき、用語「変異体」は、親抗体配列における１つ以上のアミノ酸残基の付加、欠失及び／又は置換によって「親」抗α毒素抗体又は断片アミノ酸配列とアミノ酸配列が異なる抗α毒素抗体又は断片を指す。

【００７９】

抗体の抗原結合部分は、抗原（例えばα毒素）に特異的に結合する能力を保持する１つ以上の抗体断片を含む。抗体の抗原結合機能は完全長抗体の断片により果たされ得ることが示されている。抗体の「抗原結合部分」という用語の範囲内に包含される結合断片の例としては、（ｉ）ＶＬ、ＶＨ、ＣＬ及びＣＨ１ドメインからなる一価の断片であるＦａｂ断片；（ｉｉ）ヒンジ領域でジスルフィド架橋によって連結された２つのＦａｂ断片を含む二価の断片であるＦ（ａｂ’）２断片；（ｉｉｉ）ＶＨ及びＣＨ１ドメインからなるＦｄ断片；（ｉｖ）単一の抗体アームのＶＬ及びＶＨドメインからなるＦｖ断片、（ｖ）ＶＨドメインからなるｄＡｂ断片；及び（ｖｉ）単離された相補性決定領域（ＣＤＲ）が挙げられる。Ｆｖ断片の２つのドメインＶＬ及びＶＨは、多くの場合に別個の遺伝子によりコードされるが、これらのＶＬ及びＶＨは組換え方法を用いて、それらを単一のタンパク

質鎖として作製することを可能にする合成リンカーによりつなぎ合わせることができ、このタンパク質鎖では、ＶＬ領域とＶＨ領域とが対になって一価の分子（単鎖Ｆｖ（ｓｃＦｖ）として知られる）を形成する。かかる一本鎖抗体もまた、用語「抗体」及び抗体の「抗原結合部分」の範囲内に包含される。これらの抗体断片は公知の技術を用いて得ることができ、断片は、インタクトな抗体と同様にして結合活性をスクリーニングすることができる。抗原結合部分は、組換えＤＮＡ技法によるか、又はインタクトな免疫グロブリンの酵素的若しくは化学的切断により産生することができる。

【００８０】

本抗α毒素抗体及び断片は、少なくとも１つの抗原結合ドメインを含む。一部の実施形態では、抗α毒素抗体又は断片は、配列番号２０、２２、２４、２６、２８、４１、４３、４５、４７、４９、５１、５３、５５、５７、７９、５９、６１、又は６２のアミノ酸配列を含むＶＨを含む。特定の実施形態では、抗α毒素抗体又は断片は、配列番号１９、２１、２３、２５、２７、４２、４４、４６、４８、５０、５２、５４、５６、５８、６０又は６３のアミノ酸配列を含むＶＬを含む。さらに別の実施形態では、抗α毒素抗体又は断片は、配列番号２０、２２、２４、２６、２８、４１、４３、４５、４７、４９、５１、５３、５５、５７、７９、５９、６１、又は６２のアミノ酸配列を含むＶＨと、配列番号１９、２１、２３、２５、２７、４２、４４、４６、４８、５０、５２、５４、５６、５８、６０又は６３のアミノ酸配列を含むＶＬとを含む。本明細書に提供されるとおりのＶＨ配列及びＶＬ配列の代表例については、実施例１１の表７を参照されたく、これらの代表例は任意の組み合わせで存在して抗α毒素抗体又は断片を形成することができ、又は組み合わせで存在して本発明のｍＡｂを形成することができる。一部の実施形態では、ＶＨは、配列番号２０、２２、２４、２６、２８、４１、４３、４５、４７、４９、５１、５３、５５、５７、７９、５９、６１、又は６２から選択される。様々な実施形態において、ＶＬは、配列番号１９、２１、２３、２５、２７、４２、４４、４６、４８、５０、５２、５４、５６、５８、６０又は６３から選択される。特定のＶＨ及びＶＬヌクレオチド配列を実施例１１の表８に提供する。

【００８１】

一部の実施形態では、単離抗体又はその抗原結合断片はＶＨとＶＬとを含み、ここでＶＨ及びＶＬは、配列番号２０及び１９；配列番号２２及び２１；配列番号２４及び２３；配列番号２６及び２５；配列番号２８及び２７；配列番号４１及び４２；配列番号４３及び４４；配列番号４５及び４６；配列番号４７及び４８；配列番号４７及び４８；配列番号４９及び５０；配列番号５１及び５２；配列番号５１及び５２；配列番号５３及び５４；配列番号５５及び５６；配列番号５７及び５８；配列番号５９及び６０；配列番号６１及び５８；配列番号６２及び５８；配列番号６２及び６３；配列番号７９及び６３により表されるアミノ酸配列を有する。

【００８２】

実施例１１の表１～７は、本明細書に提示される抗体及び断片の特定の実施形態の重鎖可変領域（ＶＨ）、軽鎖可変領域（ＶＬ）、及び相補性決定領域（ＣＤＲｓ）を提供する。特定の実施形態では、抗α毒素抗体及び断片は、表７に開示されるＶＨ配列及び／又はＶＬ配列の少なくとも１つに対して所与のパーセント同一性を有するＶＨ及び／又はＶＬを含む。本明細書で使用されるとき、用語「パーセント（％）配列同一性」は、同様に「相同性」を含め、候補配列において、配列のアラインメント及び必要であれば最大のパーセント配列同一性を達成するためのギャップの導入後に、且つ任意の保存的置換は配列同一性の一環としては考慮することなく、親抗体配列などの参照配列のアミノ酸残基又はヌクレオチドと同一であるアミノ酸残基又はヌクレオチドの百分率として定義される。比較のための配列の最適アラインメントは、手作業で行う他、当該技術分野において公知の局所的相同性アルゴリズムを用いるか、又はそのようなアルゴリズムを使用するコンピュータプログラム（ウィスコンシン・ジェネティクス・ソフトウェア・パッケージ（Ｗｉｓｃｏｎｓｉｎ Ｇｅｎｅｔｉｃｓ Ｓｏｆｔｗａｒｅ Ｐａｃｋａｇｅ），Ｇｅｎｅｔｉｃｓ Ｃｏｍｐｕｔｅｒ Ｇｒｏｕｐ，５７５ Ｓｃｉｅｎｃｅ Ｄｒｉｖｅ，Ｍａｄｉｓ

ｏｎ，ＷｉｓｃｏｎｓｉｎにおけるＧＡＰ、ＢＥＳＴＦＩＴ、ＦＡＳＴＡ、ＢＬＡＳＴＰ、ＢＬＡＳＴ　Ｎ及びＴＦＡＳＴＡ）を用いることにより生成され得る。

【００８３】

一部の実施形態では、抗α毒素抗体又は断片は、配列番号２０、２２、２４、２６、２８、４１、４３、４５、４７、４９、５１、５３、５５、５７、７９、５９、６１、又は６２のアミノ酸配列と少なくとも６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％の同一性を含む、又はそれと１００％の同一性を含むＶＨアミノ酸配列を含む。一部の実施形態では、抗α毒素抗体又は断片は、配列番号２０、２２、２４、２６、２８、４１、４３、４５、４７、４９、５１、５３、５５、５７、７９、５９、６１、又は６２のアミノ酸配列と少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％同一の、又はそれと１００％同一のＶＨアミノ酸配列を含む。特定の実施形態では、抗α毒素抗体又は断片は、配列番号２０、２２、２４、２６、２８、４１、４３、４５、４７、４９、５１、５３、５５、５７、７９、５９、６１、又は６２のアミノ酸配列に１～１０個の保存的置換を含む。特定の実施形態では、配列番号２０、２２、２４、２６、２８、４１、４３、４５、４７、４９、５１、５３、５５、５７、７９、５９、６１、又は６２と所与のパーセント同一性（ｐｅｒｃｅｎｔ　ｉｄｅｎｔｉｆｙ）を有するＶＨアミノ酸配列を含む抗α毒素抗体又は断片は、以下からなる群から選択される１つ以上の特性（以下にさらに詳細に記載される）を有する：

（ａ）約１３ｎＭ以下のα毒素に対する親和性定数（K_D）；

（ｂ）α毒素モノマーに結合するが、α毒素のα毒素受容体との結合は阻害しない；

（ｃ）α毒素オリゴマーの形成を少なくとも５０％、６０％、７０％、８０％、９０％又は９５％阻害する；

（ｄ）α毒素の細胞溶解活性を（例えば、細胞溶解及び溶血アッセイにより決定されるとき）少なくとも５０％、６０％、７０％、８０％、９０％又は９５％低下させる；

（ｅ）細胞浸潤及び炎症誘発性サイトカイン放出を（例えば、動物肺炎モデルにおいて）低下させる。

【００８４】

一部の実施形態では、単離抗体又はその抗原結合断片は、約０．０１ｎＭ～約５０ｎＭ、０．０５ｎＭ、０．１ｎＭ、０．５ｎＭ、１ｎＮ、５ｎＭ、１０ｎＭ、２０ｎＭ、３０ｎＭ、又は４０ｎＭの範囲の解離定数（K_D）により特徴付けられる親和性で抗原（例えばα毒素）と結合する。

【００８５】

特定の実施形態では、抗α毒素抗体又は断片は、配列番号１９、２１、２３、２５、２７、４２、４４、４６、４８、５０、５２、５４、５６、５８、６０又は６３のアミノ酸配列と少なくとも６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％同一の、又はそれと１００％同一のＶＬアミノ酸配列を含む。一部の実施形態では、抗α毒素抗体又は断片は、配列番号１９、２１、２３、２５、２７、４２、４４、４６、４８、５０、５２、５４、５６、５８、６０又は６３のアミノ酸配列と少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％同一の、又はそれと１００％同一のＶＬアミノ酸配列を含む。様々な実施形態において、抗α毒素抗体又は断片は、配列番号１９、２１、２３、２５、２７、４２、４４、４６、４８、５０、５２、５４、５６、５８、６０又は６３のアミノ酸配列に１～１０個の保存的置換を含む。特定の実施形態では、配列番号１９、２１、２３、２５、２７、４２、４４、４６、４８、５０、５２、５４、５６、５８、６０又は６３と所与のパーセント同一性（ｐｅｒｃｅｎｔ　ｉｄｅｎｔｉｆｙ）を有するＶＬアミノ酸配列を含む抗α毒素抗体又は断片は、以下からなる群から選択される１つ以上の特性（以下にさらに詳細に記載される）を有する：

（ａ）約１３ｎＭ以下のα毒素に対する親和性定数（K_D）；

（ｂ）α毒素モノマーに結合するが、α毒素のα毒素受容体との結合は阻害しない；

（ｃ）α毒素オリゴマーの形成を少なくとも５０％、６０％、７０％、８０％、９０％又は９５％阻害する；

（ｄ）α毒素の細胞溶解活性を少なくとも５０％、６０％、７０％、８０％、９０％又は９５％低下させる；（例えば、細胞溶解及び溶血アッセイ（ｃｅｌｌ　ｌｙｓｉｓ　ａｄｄ　ｈｅｍｏｌｙｓｉｓ　ａｓｓａｙ）により決定されるとき）；

（ｅ）細胞浸潤及び炎症誘発性サイトカイン放出を（例えば、動物肺炎モデルにおいて）低下させる。

【００８６】

一部の実施形態では、単離抗体又はその抗原結合断片は、約０．０１ｎＭ～約５０ｎＭ、０．０５ｎＭ、０．１ｎＭ、０．５ｎＭ、１ｎＮ、５ｎＭ、１０ｎＭ、２０ｎＭ、３０ｎＭ、又は４０ｎＭの範囲の解離定数（K_D）により特徴付けられる親和性で抗原（例えばα毒素）と結合する。

【００８７】

具体的な実施形態において、抗体又は抗体断片はα毒素と免疫特異的に結合し、且つ配列番号２０、２２、２４、２６、２８、４１、４３、４５、４７、４９、５１、５３、５５、５７、７９、５９、６１、又は６２のアミノ酸配列と少なくとも９０％の同一性を含む重鎖可変ドメインを含み、且つ配列番号１９、２１、２３、２５、２７、４２、４４、４６、４８、５０、５２、５４、５６、５８、６０又は６３のアミノ酸配列と少なくとも９０％の同一性を含む軽鎖可変ドメインを含み、ここで抗体は、１つ以上のα毒素モノマーが互いに結合するのを阻害する活性を有する（例えば、オリゴマー形成を阻害する）。

【００８８】

相補性決定領域（ｃｏｍｐｌｉｍｅｎｔａｒｉｔｙ　ｄｅｔｅｒｍｉｎｉｎｇ　ｒｅｇｉｏｎｓ）

可変ドメイン（ＶＨ及びＶＬ）は抗原結合領域を含むが、その変異性は抗体の可変ドメインにわたり均等に分布するわけではない。変異性は、軽鎖（ＶＬ又はＶＫ）及び重鎖（ＶＨ）のいずれの可変ドメインにもある相補性決定領域（ＣＤＲ）と呼ばれるセグメントに集中している。可変ドメインのなかでより高度に保存されている部分は、フレームワーク領域（ＦＲ）と呼ばれる。天然の重鎖及び軽鎖の可変ドメインは、各々４つのＦＲを含み、ＦＲは概してβシート構造をとり、３つのＣＤＲにより接続される。ＣＤＲはループを形成し、これらのループがβシート構造を接続し、及びある場合にはβシート構造の一部を形成する。各鎖のＣＤＲはＦＲによって近接して一体に保持され、他方の鎖のＣＤＲと共に抗体の抗原結合部位の形成に寄与する（Ｋａｂａｔ　ｅｔ　ａｌ．，前掲を参照のこと）。重鎖の３つのＣＤＲはＶＨ－ＣＤＲ１、ＶＨ　ＣＤＲ２、及びＶＨ－ＣＤＲ－３と命名され、軽鎖の３つのＣＤＲはＶＬ－ＣＤＲ１、ＶＬ－ＣＤＲ２、及びＶｌ－ＣＤＲ３と命名される。本明細書ではカバット付番方式を使用している。従って、ＶＨ－ＣＤＲ１はおよそアミノ酸３１から始まり（すなわち、最初のシステイン残基後の約９残基）、約５～７アミノ酸を含み、及び次のセリン残基で終わる。ＶＨ－ＣＤＲ２はＣＤＲ－Ｈ１の終わりから１５番目の残基から始まり、約１６～１９アミノ酸を含み、及び次のグリシン残基で終わる。ＶＨ－ＣＤＲ３はＶＨ－ＣＤＲ２の終わりから約３０番目のアミノ酸残基から始まり；約１３～１５アミノ酸を含み；及び配列Ｍ－Ｄ－Ｖで終わる。ＶＬ－ＣＤＲ１はおよそ残基２４から始まり（すなわち、システイン残基に続く）；約１０～１５残基を含み；及び配列Ｙ－Ｖ－Ｓで終わる。ＶＬ－ＣＤＲ２はＶＬ－ＣＤＲ１の終わりから約１６番目の残基から始まり、及び約７残基を含む。ＶＬ－ＣＤＲ３はＶＨ－ＣＤＲ２の終わりから約３３番目の残基から始まり；約７～１１残基を含み、及び配列Ｔ－Ｉ－Ｌで終わる。ＣＤＲは抗体毎に著しく異なる（及び定義上、カバットのコンセンサス配列との相同性は示さない）ことに留意されたい。

【００８９】

本抗α毒素抗体及び断片は、少なくとも１つの相補性決定領域（ＣＤＲ１、ＣＤＲ２又はＣＤＲ３）を含む少なくとも１つの抗原結合ドメインを含む。一部の実施形態では、抗α毒素抗体又は断片は、少なくとも１つのＶＨ　ＣＤＲ（例えば、ＣＤＲ－Ｈ１、ＣＤＲ－Ｈ２又はＣＤＲ－Ｈ３）を含むＶＨを含む。特定の実施形態では、抗α毒素抗体又は断片は、少なくとも１つのＶＬ　ＣＤＲ（例えば、ＣＤＲ－Ｌ１、ＣＤＲ－Ｌ２又はＣＤＲ

－Ｌ３）を含むＶＬを含む。
【００９０】
一部の実施形態では、黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ａｕｒｅｕｓ）α毒素ポリペプチドに免疫特異的に結合する単離抗体又はその抗原結合断片は、（ａ）配列番号７、１０、１３又は６９と同一の、又はそれと比べて１、２、又は３個のアミノ酸残基置換を含むアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ１；（ｂ）配列番号８、１１、１４、１７、７０又は７５と同一の、又はそれと比べて１、２、又は３個のアミノ酸残基置換を含むアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ２；及び（ｃ）配列番号９、１２、１５、１８、１６、６５、６６、６７、７１、７２、７６又は７８と同一の、又はそれと比べて１、２、又は３個のアミノ酸残基置換を含むアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ３を含む。
【００９１】
詳細な実施形態では、単離抗体又はその抗原結合断片は、配列番号７、８及び９；配列番号１０、１１及び１２；配列番号１３、１４及び１５；配列番号７、１７及び１８；配列番号７、８及び１６；配列番号７、８及び６５；配列番号７、８及び６６；配列番号７、８、及び６７；配列番号７、８及び７８；配列番号６９、７０及び７１；配列番号７、８及び７２；配列番号６９、７５及び７１；配列番号６９、７５及び７６；又は配列番号６９、７０及び７１と同一の、又はそれと比べて各ＣＤＲに１、２、又は３個のアミノ酸残基置換を含むアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ１、ＶＨ　ＣＤＲ２及びＶＨ　ＣＤＲ３を含む。
【００９２】
一部の実施形態では、黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ａｕｒｅｕｓ）α毒素ポリペプチドに免疫特異的に結合する単離抗体又はその抗原結合断片は、（ａ）配列番号１又は４と同一の、又はそれと比べて１、２、又は３個のアミノ酸残基置換を含むアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ１；（ｂ）配列番号２、５、７３又は７７と同一の、又はそれと比べて１、２、又は３個のアミノ酸残基置換を含むアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ２；及び（ｃ）配列番号３、６、６４、６８又は７４と同一の、又はそれと比べて１、２、又は３個のアミノ酸残基置換を含むアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ３を含む。
【００９３】
詳細な実施形態では、単離抗体又はその抗原結合断片は、配列番号１、２及び３；配列番号４、５及び６；配列番号１、２及び６４；配列番号１、２及び６８；配列番号１、７３及び７４；又は配列番号１、７７及び７４と同一の、又はそれと比べて各ＣＤＲに１、２、又は３個のアミノ酸残基置換を含むアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ１、ＶＬ　ＣＤＲ２及びＶＬ　ＣＤＲ３を含む。
【００９４】
一部の実施形態では、黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ａｕｒｅｕｓ）α毒素ポリペプチドに免疫特異的に結合する単離抗体又はその抗原結合断片は、（ａ）配列番号７、１０、１３又は６９のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ１；（ｂ）配列番号８、１１、１４、１７、７０又は７５のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ２；（ｃ）配列番号９、１２、１５、１８、１６、６５、６６、６７、７１、７２、７６又は７８のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ３；（ｄ）配列番号１又は４のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ１；（ｅ）配列番号２、５、７３、又は７７のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ２；及び（ｆ）配列番号３、６、６４、６８又は７４のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ３と同一の、又はそれと比べて各ＣＤＲに１、２、又は３個のアミノ酸残基置換を含むアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ１、ＶＨ　ＣＤＲ２、ＶＨ　ＣＤＲ３、ＶＬ　ＣＤＲ１、ＶＬ　ＣＤＲ２及びＶＬ　ＣＤＲ３を含む。
【００９５】
詳細な実施形態では、単離抗体又はその抗原結合断片は、配列番号７、８、９、１、２及び３；配列番号１０、１１、１２、１、２及び３；配列番号１３、１４、１５、４、５及び６；配列番号７、１７、１８、１、２及び３；配列番号７、８、１６、１、２及び６４；配列番号７、８、６５、１、２及び６４；配列番号７、８、６６、１、２及び６４；

配列番号７、８、６７、１、２及び６８；配列番号７、８、６７、１、２及び６４；配列番号７、８、７８、１、２及び６４；配列番号７、８、６５、１、２及び６８；配列番号６９、７０、７１、１、２及び６８；配列番号７、８、７２、１、７３及び７４；配列番号６９、７５、７１、１、２及び６８；配列番号６９、７５、７６、１、２及び６８；配列番号６９、７５、７６、１、７７及び７４；配列番号６９、７０、７１、１、７７及び７４と同一の、又はそれと比べて各ＣＤＲに１、２、又は３個のアミノ酸残基置換を含むアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ１、ＶＨ　ＣＤＲ２、ＶＨ　ＣＤＲ３、ＶＬ　ＣＤＲ１、ＶＬ　ＣＤＲ２、及びＶＬ　ＣＤＲ３を含む。

【００９６】

一部の実施形態では、（ｉ）３つのＣＤＲを含むＶＨ鎖ドメインと３つのＣＤＲを含むＶＬ鎖ドメインとを含み；及び（ｉｉ）黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ａｕｒｅｕｓ）α毒素ポリペプチドに免疫特異的に結合する単離抗体又はその抗原結合断片を含む組成物が提供され、ここでＶＨ鎖ドメインの３つのＣＤＲは、（ａ）配列番号７、１０、１３又は６９のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ１；（ｂ）配列番号８、１１、１４、１７、７０又は７５のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ２；及び（ｃ）配列番号９、１２、１５、１８、１６、６５、６６、６７、７１、７２、７６又は７８のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ３を含む。詳細な実施形態では、ＶＨ　ＣＤＲ１、ＶＨ　ＣＤＲ２及びＶＨ　ＣＤＲ３は、配列番号７、８及び９；配列番号１０、１１及び１２；配列番号１３、１４及び１５；配列番号７、１７及び１８；配列番号７、８及び１６；配列番号７、８及び６５；配列番号７、８及び６６；配列番号７、８、及び６７；配列番号７、８及び７８；配列番号６９、７０及び７１；配列番号７、８及び７２；配列番号６９、７５及び７１；配列番号６９、７５及び７６；又は配列番号６９、７０及び７１に対応する。

【００９７】

また、特定の実施形態では、（ｉ）３つのＣＤＲを含むＶＨ鎖ドメインと３つのＣＤＲを含むＶＬ鎖ドメインとを含み；及び（ｉｉ）黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ａｕｒｅｕｓ）α毒素ポリペプチドに免疫特異的に結合する単離抗体又はその抗原結合断片を含む組成物も提供され、ここでＶＬ鎖ドメインの３つのＣＤＲは、（ａ）配列番号１又は４のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ１；（ｂ）配列番号２、５、７３、又は７７のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ２；及び（ｃ）配列番号３、６、６４、６８又は７４のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ３を含む。詳細な実施形態では、ＶＬ　ＣＤＲ１、ＶＬ　ＣＤＲ２及びＶＬ　ＣＤＲ３は、配列番号１、２及び３；配列番号４、５及び６；配列番号１、２及び６４；配列番号１、２及び６８；配列番号１、７３及び７４；又は配列番号１、７７及び７４に対応する。

【００９８】

特定の実施形態では、抗α毒素抗体又は断片は、黄色ブドウ球菌（Ｓ．ａｕｒｅｕｓ）α毒素と免疫特異的に結合し、且つ（ａ）配列番号７、１０、１３又は６９と同一の、又はそれと比べて１、２、又は３個のアミノ酸残基置換を含むアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ１；（ｂ）配列番号８、１１、１４、１７、７０又は７５と同一の、又はそれと比べて１、２、又は３個のアミノ酸残基置換を含むアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ２；及び（ｃ）配列番号９、１２、１５、１８、１６、６５、６６、６７、７１、７２、７６又は７８と同一の、又はそれと比べて１、２、又は３個のアミノ酸残基置換を含むアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ３；（ｄ）配列番号１又は４のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ１；（ｅ）配列番号２、５、７３、又は７７のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ２；及び（ｆ）配列番号３、６、６４、６８又は７４のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ３を含み、且つ以下からなる群から選択される１つ以上の特性（以下にさらに詳細に記載される）を有する：

（ａ）約１３ｎＭ以下のα毒素に対する親和性定数（K_D）；

（ｂ）α毒素モノマーに結合するが、α毒素のα毒素受容体との結合は阻害しない；

（ｃ）α毒素オリゴマーの形成を少なくとも５０％、６０％、７０％、８０％、９０％又は９５％阻害する；

（ｄ）α毒素の細胞溶解活性を少なくとも５０％、６０％、７０％、８０％、９０％又は９５％低下させる；（例えば、細胞溶解及び溶血アッセイ（ｃｅｌｌ　ｌｙｓｉｓ　ａｄｄ　ｈｅｍｏｌｙｓｉｓ　ａｓｓａｙ）により決定されるとき）；

（ｅ）細胞浸潤及び炎症誘発性サイトカイン放出を（例えば、動物肺炎モデルにおいて）低下させる。

【００９９】

一部の実施形態では、単離抗体又はその抗原結合断片は、約０．０１ｎＭ～約５０ｎＭ、０．０５ｎＭ、０．１ｎＭ、０．５ｎＭ、１ｎＮ、５ｎＭ、１０ｎＭ、２０ｎＭ、３０ｎＭ、又は４０ｎＭの範囲の解離定数（K_D）により特徴付けられる親和性で抗原（例えばα毒素）と結合する。

【０１００】

実施例１１の表１～７は、本発明の抗体のＶＨ　ＣＤＲ１、ＶＨ　ＣＤＲ２、ＶＨ　ＣＤＲ３、ＶＬ　ＣＤＲ１、ＶＬ　ＣＤＲ２及びＶＬ　ＣＤＲ３の配列を提供する。表９は、ＶＨ　ＣＤＲ及びＶＬ　ＣＤＲの概要を提供する。所与の抗体に対して各ＣＤＲ領域は独立して選択することができるため、これらの領域は様々な組み合わせで組み合わせることができる。表７は、各領域に選択することのできる種々の配列を示す。特定の実施形態では、ＶＬ　ＣＤＲ３配列が任意の組み合わせで存在して本抗α毒素抗体又は断片を形成し得る。特定の実施形態では、表９に示されるとおり、ＶＨ　ＣＤＲ１は配列番号７、１０、１３又は６９から選択され、ＶＨ　ＣＤＲ２は配列番号８、１１、１４、１７、７０又は７５から選択され、及びＶＨ　ＣＤＲ３は配列番号９、１２、１５、１８、１６、６５、６６、６７、７１、７２、７６又は７８から選択される。一部の実施形態では、表９に示されるとおり、ＶＬ　ＣＤＲ１は配列番号１又は４から選択され、ＶＬ　ＣＤＲ２は配列番号２、５、７３、又は７７から選択され、及びＶＬ　ＣＤＲ３は配列番号３、６、６４、６８又は７４から選択される。

【０１０１】

ＶＨ　ＣＤＲ３及びＶＬ　ＣＤＲ３ドメインは、抗原に対する抗体の結合特異性／親和性において役割を果たす。（従って、一部の実施形態では、抗α毒素抗体又は断片又はその抗原結合断片は、配列番号９、１２、１５、１８、１６、６５、６６、６７、７１、７２、７６又は７８と同一の、又はそれと比べて１、２、又は３個のアミノ酸残基置換を含むアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ３を含む。様々な実施形態において、抗α毒素抗体又は断片は、配列番号３、６、６４、６８又は７４と同一の、又はそれと比べて１、２、又は３個のアミノ酸残基置換を含むアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ３を含む。抗α毒素抗体及び断片の残りの部分（例えば、ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、ＶＨ、ＶＬなど）は、その抗α毒素抗体及び断片が黄色ブドウ球菌（Ｓ．ａｕｒｅｕｓ）α毒素と免疫特異的に結合するならば、本明細書に開示される特定の配列又は既知の配列を含んでもよい。

【０１０２】

一部の実施形態では、単離抗体又はその抗原結合断片はα毒素と免疫特異的に結合し、且つ配列番号９、１２、１５、１８、１６、６５、６６、６７、７１、７２、７６又は７８と同一の、又はそれと比べて１、２、又は３個のアミノ酸残基置換を含むアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ３を含み、ここで抗体又は抗原結合断片はα毒素オリゴマー形成を阻害する。

【０１０３】

一部の実施形態では、単離抗体又はその抗原結合断片はα毒素と免疫特異的に結合し、且つ配列番号３、６、６４、６８又は７４と同一の、又はそれと比べて１、２、又は３個のアミノ酸残基置換を含むアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ３を含み、ここで抗体又は抗原結合断片はα毒素オリゴマー形成を阻害する。

【０１０４】

一部の実施形態では、単離抗体又はその抗原結合断片はα毒素と免疫特異的に結合し、且つ配列番号９、１２、１５、１８、１６、６５、６６、６７、７１、７２、７６又は７８と同一の、又はそれと比べて１、２、又は３個のアミノ酸残基置換を含むアミノ酸配列

を含むＶＨ　ＣＤＲ３を含み、ここで抗体又は抗原結合断片はサイトカインの放出を低減又は阻害する。

【０１０５】

一部の実施形態では、単離抗体又はその抗原結合断片はα毒素と免疫特異的に結合し、且つ配列番号３、６、６４、６８又は７４と同一の、又はそれと比べて１、２、又は３個のアミノ酸残基置換を含むアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ３を含み、ここで抗体又は抗原結合断片はサイトカインの放出を低減又は阻害する。

【０１０６】

一部の実施形態では、単離抗体又はその抗原結合断片はα毒素と免疫特異的に結合し、且つ配列番号９、１２、１５、１８、１６、６５、６６、６７、７１、７２、７６又は７８と同一の、又はそれと比べて１、２、又は３個のアミノ酸残基置換を含むアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ３を含み、ここで抗体又は抗原結合断片は皮膚壊死を軽減し、又は消失させる。

【０１０７】

一部の実施形態では、単離抗体又はその抗原結合断片はα毒素と免疫特異的に結合し、且つ配列番号３、６、６４、６８又は７４と同一の、又はそれと比べて１、２、又は３個のアミノ酸残基置換を含むアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ３を含み、ここで抗体又は抗原結合断片は皮膚壊死を軽減し、又は消失させる。

【０１０８】

抗α毒素抗体及び断片は、多くの場合に、本明細書に記載されるアミノ酸配列と実質的に同じである１つ以上のアミノ酸配列を含む。実質的に同じであるアミノ酸配列には、保存的アミノ酸置換、並びにアミノ酸欠失及び／又は挿入を含む配列が含まれる。保存的アミノ酸置換とは、第１のアミノ酸を、第１のアミノ酸と同様の化学的及び／又は物理的特性（例えば、電荷、構造、極性、疎水性／親水性）を有する第２のアミノ酸によって置換することを指す。保存的置換には、以下の群の範囲内での一つのアミノ酸の別のアミノ酸による置換が含まれる：リジン（Ｋ）、アルギニン（Ｒ）及びヒスチジン（Ｈ）；アスパラギン酸（Ｄ）及びグルタミン酸（Ｅ）；アスパラギン（Ｎ）、グルタミン（Ｑ）、セリン（Ｓ）、スレオニン（Ｔ）、チロシン（Ｙ）、Ｋ、Ｒ、Ｈ、Ｄ及びＥ；アラニン（Ａ）、バリン（Ｖ）、ロイシン（Ｌ）、イソロイシン（Ｉ）、プロリン（Ｐ）、フェニルアラニン（Ｆ）、トリプトファン（Ｗ）、メチオニン（Ｍ）、システイン（Ｃ）及びグリシン（Ｇ）；Ｆ、Ｗ及びＹ；Ｃ、Ｓ及びＴ。

【０１０９】

フレームワーク領域

重鎖及び軽鎖の可変ドメインは、各々４つのフレームワーク領域（一般にＦＲ１、ＦＲ２、ＦＲ３、ＦＲ４か、或いはＦＷ１、ＦＷ２、ＦＷ３、ＦＷ４）を含み、これらは可変ドメインのなかでより高度に保存されている部分である。重鎖の４つのフレームワーク領域は、ここではＶＨ－ＦＷ１、ＶＨ－ＦＷ２、ＶＨ－ＦＷ３及びＶＨ－ＦＷ４と命名され、及び軽鎖の４つのフレームワーク領域は、ここではＶＬ－ＦＷｌ、ＶＬ－ＦＷ２、ＶＬ－ＦＷ３及びＶＨ－ＦＷ４と命名される。本明細書ではカバット付番方式を使用し、従ってＶＨ－ＦＷ１は１位で始まっておよそアミノ酸３０位で終わり、ＶＨ－ＦＷ２はおよそアミノ酸３６～４９位であり、ＶＨ－ＦＷ３はおよそアミノ酸６６～９４位であり、及びＶＨ－ＦＷ４はおよそアミノ酸１０３～１１３位である。ＶＬ－ＦＷ１はアミノ酸１位で始まっておよそアミノ酸２３位で終わり、ＶＬ－ＦＷ２はおよそアミノ酸３５～４９位であり、ＶＬ－ＦＷ３はおよそアミノ酸５７～８８位であり、及びＶＬ－ＦＷ４はおよそアミノ酸９８～１０７位である。特定の実施形態では、フレームワーク領域はカバット付番方式に従う置換、例えばＶＬ－ＦＷ１における１０６Ａに挿入を含む。天然に存在する置換に加え、ＦＲ残基の１つ以上の改変（例えば置換）もまた、抗α毒素抗体又は断片に導入され得る。特定の実施形態では、そのような改変は、抗α毒素に対する抗体の結合親和性の向上又は最適化をもたらす。修飾することができるフレームワーク領域残基の非限定的な例には、抗原と直接非共有結合的に結合する残基、ＣＤＲの立体構造と相互作用する

／それをもたらす残基、及び／又はＶＬ－ＶＨ接合に関与する残基が含まれる。
【０１１０】
特定の実施形態では、フレームワーク領域は、「生殖系列化」を目的とした１つ以上のアミノ酸変化を含み得る。例えば、選択した抗体重鎖及び軽鎖のアミノ酸配列を生殖系列の重鎖及び軽鎖アミノ酸配列と比較し、選択したＶＬ鎖及び／又はＶＨ鎖の特定のフレームワーク残基が生殖系列の構成と（例えば、ファージライブラリの調製に用いる免疫グロブリン遺伝子の体細胞突然変異の結果として）異なる場合、選択した抗体の改変されたフレームワーク残基を生殖系列構成に「逆変異させる」ことが望ましいこともある（すなわち、選択した抗体のフレームワークアミノ酸配列を、それが生殖系列フレームワークアミノ酸配列と同じになるように変化させる）。かかるフレームワーク残基の「逆変異」（又は「生殖系列化」）は、特定の突然変異を導入する標準的な分子生物学的方法（例えば部位特異的突然変異誘発；ＰＣＲ媒介性突然変異誘発など）により達成することができる。一部の実施形態では、可変軽鎖及び／又は重鎖フレームワーク残基が逆変異される。特定の実施形態では、提示される単離抗体又はその抗原結合断片の可変重鎖が逆変異される。特定の実施形態では、単離抗体又はその抗原結合断片の可変重鎖は、少なくとも１つ、少なくとも２つ、少なくとも３つ、少なくとも４つ又はそれ以上の逆変異を含む。
【０１１１】
特定の実施形態では、本明細書に提示される抗α毒素抗体又は断片のＶＨは、配列番号２０、２２、２４、２６、２８、４１、４３、４５、４７、４９、５１、５３、５５、５７、７９、５９、６１、又は６２の範囲内の対応するフレームワーク領域（すなわち、抗体ＹのＦＲ１と比較したときの抗体ＸのＦＲ１）と約６５％～約１００％のアミノ酸配列同一性を有するＦＲ１、ＦＲ２、ＦＲ３及び／又はＦＲ４を含み得る。一部の実施形態では、抗α毒素抗体又は断片は、ＶＨ配列番号２０、２２、２４、２６、２８、４１、４３、４５、４７、４９、５１、５３、５５、５７、７９、５９、６１、又は６２の対応するＦＲと少なくとも６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％同一の、又はそれと１００％同一のＶＨ　ＦＲアミノ酸配列（ＦＲ１、ＦＲ２、ＦＲ３及び／又はＦＲ４）を含む。特定の実施形態では、抗α毒素抗体又は断片は、ＶＨ配列番号２０、２２、２４、２６、２８、４１、４３、４５、４７、４９、５１、５３、５５、５７、７９、５９、６１、又は６２の対応するＦＲと少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％同一の、又はそれと１００％同一のＶＨ　ＦＲアミノ酸配列（ＦＲ１、ＦＲ２、ＦＲ３及び／又はＦＲ４）を含む。
【０１１２】
特定の実施形態では、抗α毒素抗体又は断片は、ＶＨ配列番号２０、２２、２４、２６、２８、４１、４３、４５、４７、４９、５１、５３、５５、５７、７９、５９、６１、又は６２の対応するＦＲと同一の、又はそれと比べて１、２又は３個のアミノ酸置換を含むアミノ酸配列を含むＶＨ　ＦＲ（ＦＲ１、ＦＲ２、ＦＲ３及び／又はＦＲ４）を含み得る。特にＶＨのＦＲ１、ＦＲ２、ＦＲ３又はＦＲ４は、各々、ＶＨ配列番号２０、２２、２４、２６、２８、４１、４３、４５、４７、４９、５１、５３、５５、５７、７９、５９、６１、又は６２の対応するＦＲ１、ＦＲ２、ＦＲ３又はＦＲ４と同一の、又はそれと比べて１、２又は３個のアミノ酸置換を含むアミノ酸配列を有し得る。
【０１１３】
特定の実施形態では、本明細書に提供される抗α毒素抗体又は断片のＶＬは、ＶＬ配列番号１９、２１、２３、２５、２７、４２、４４、４６、４８、５０、５２、５４、５６、５８、６０又は６３のＦＲの範囲内の対応するフレームワーク領域（すなわち、抗体ＹのＦＲ１と比較したときの抗体ＸのＦＲ１）とアミノ酸配列同一性（例えば、約６５％～約１００％の配列同一性）を有するＦＲ１、ＦＲ２、ＦＲ３及び／又はＦＲ４を含み得る。一部の実施形態では、抗α毒素抗体又は断片は、ＶＬ配列番号１９、２１、２３、２５、２７、４２、４４、４６、４８、５０、５２、５４、５６、５８、６０又は６３の対応するＦＲと少なくとも６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％同一の、又はそれと１００％同一のＶＬ　ＦＲアミノ酸配列（ＦＲ１、ＦＲ２、ＦＲ３及び／又

はＦＲ４）を含む。特定の実施形態では、抗α毒素抗体又は断片は、ＶＬ配列番号１９、２１、２３、２５、２７、４２、４４、４６、４８、５０、５２、５４、５６、５８、６０又は６３の対応するＦＲと少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％同一の、又はそれと１００％同一のＶＬ　ＦＲアミノ酸配列（ＦＲ１、ＦＲ２、ＦＲ３及び／又はＦＲ４）を含む。

【０１１４】

特定の実施形態では、抗α毒素抗体又は断片は、ＶＬ配列番号１９、２１、２３、２５、２７、４２、４４、４６、４８、５０、５２、５４、５６、５８、６０又は６３の対応するＦＲと同一の、又はそれと比べて１、２又は３個のアミノ酸置換を含むアミノ酸配列を含むＶＬ　ＦＲ（ＦＲ１、ＦＲ２、ＦＲ３及び／又はＦＲ４）を含む。特にＶＬのＦＲ１、ＦＲ２、ＦＲ３又はＦＲ４は、各々、ＶＨ配列番号１９、２１、２３、２５、２７、４２、４４、４６、４８、５０、５２、５４、５６、５８、６０又は６３の対応するＦＲ１、ＦＲ２、ＦＲ３又はＦＲ４と同一の、又はそれと比べて１、２又は３個のアミノ酸置換を含むアミノ酸配列を有し得る。

【０１１５】

特定の実施形態では、単離抗体又はその抗原結合断片はα毒素と免疫特異的に結合し、且つＶＨ配列番号２０、２２、２４、２６、２８、４１、４３、４５、４７、４９、５１、５３、５５、５７、７９、５９、６１、又は６２の対応するＦＲと同一の、又はそれと比べて１、２又は３個のアミノ酸置換を含むアミノ酸配列を含むＶＨ　ＦＲ（ＦＲ１、ＦＲ２、ＦＲ３及び／又はＦＲ４）、及び／又はＶＬ配列番号１９、２１、２３、２５、２７、４２、４４、４６、４８、５０、５２、５４、５６、５８、６０又は６３の対応するＦＲと同一の、又はそれと比べて１、２又は３個のアミノ酸置換を含むアミノ酸配列を含むＶＬ　ＦＲ（ＦＲ１、ＦＲ２、ＦＲ３及び／又はＦＲ４）を含み、ここで抗体は、以下からなる群から選択される１つ以上の特性（以下にさらに詳細に記載される）を有する：

（ａ）約１３ｎＭ以下のα毒素に対する親和性定数（K_D）；

（ｂ）α毒素モノマーに結合するが、α毒素のα毒素受容体との結合は阻害しない；

（ｃ）α毒素オリゴマーの形成を少なくとも５０％、６０％、７０％、８０％、９０％又は９５％阻害する；

（ｄ）α毒素の細胞溶解活性を少なくとも５０％、６０％、７０％、８０％、９０％又は９５％低下させる；（例えば、細胞溶解及び溶血アッセイ（ｃｅｌｌ　ｌｙｓｉｓ　ａｄｄ　ｈｅｍｏｌｙｓｉｓ　ａｓｓａｙ）により決定されるとき）；

（ｅ）細胞浸潤及び炎症誘発性サイトカイン放出を（例えば、動物肺炎モデルにおいて）低下させる。

【０１１６】

一部の実施形態では、単離抗体又はその抗原結合断片は、約０．０１ｎＭ～約５０ｎＭ、０．０５ｎＭ、０．１ｎＭ、０．５ｎＭ、１ｎＮ、５ｎＭ、１０ｎＭ、２０ｎＭ、３０ｎＭ、又は４０ｎＭの範囲の解離定数（K_D）により特徴付けられる親和性で抗原（例えばα毒素）と結合する。

【０１１７】

抗α毒素抗体及び断片をコードするヌクレオチド配列

上記に記載されるアミノ酸配列に加えて、本明細書に開示されるアミノ酸配列に対応し、且つヒト抗体、ヒト化抗体及び／又はキメラ抗体をコードするヌクレオチド配列がさらに提供される。一部の実施形態では、ポリヌクレオチドは、本明細書に記載される抗α毒素抗体又は断片をコードするヌクレオチド配列又はその断片を含む。それらとしては、限定はされないが、上記に参照されるアミノ酸配列をコードするヌクレオチド配列が挙げられる。ヌクレオチド配列は実施例１１の表８に提供される。従って、また、本明細書に記載される抗体のＣＤＲ及びＦＲを含むＶＨ及びＶＬフレームワーク領域をコードするポリヌクレオチド配列、並びに細胞（例えば哺乳動物細胞）においてそれらを効率的に発現させる発現ベクターも提供される。ポリヌクレオチドを使用した抗α毒素抗体又は断片の作製方法を以下にさらに詳細に記載する。

【０１１８】
また、抗α毒素抗体又は断片をコードするポリヌクレオチドと、例えば本明細書に定義するとおりの、ストリンジェントな又はより低いストリンジェンシーのハイブリダイゼーション条件下でハイブリダイズするポリヌクレオチドも含まれる。用語「ストリンジェンシー」は、本明細書で使用されるとき、２つの核酸間の相同性の程度を表すハイブリダイゼーション実験の実験条件（例えば、温度及び塩濃度）を指す；ストリンジェンシーが高いほど、２つの核酸間のパーセント相同性は高くなる。
【０１１９】
ストリンジェントなハイブリダイゼーション条件としては、限定はされないが、セ氏約４５度での６×塩化ナトリウム／クエン酸ナトリウム（ＳＳＣ）中におけるフィルターに結合したＤＮＡとのハイブリダイゼーションと、続くセ氏約５０～６５度での０．２×ＳＳＣ／０．１％ＳＤＳ中での１回以上の洗浄が挙げられ、セ氏約４５度での６×ＳＳＣ中におけるフィルターに結合したＤＮＡとのハイブリダイゼーションと、続くセ氏約６５度での０．１×ＳＳＣ／０．２％ＳＤＳ中での１回以上の洗浄などの高度にストリンジェントな条件、又は任意の他のストリンジェントなハイブリダイゼーション条件が公知である。
【０１２０】
特定の実施形態では、核酸又はその断片は抗α毒素抗体又は断片をコードし、及びストリンジェントな条件下で、配列番号１９、２１、２３、２５、２７、４２、４４、４６、４８、５０、５２、５４、５６、５８、６０又は６３のアミノ酸配列をコードするヌクレオチド配列を含む核酸とハイブリダイズし得る。
【０１２１】
特定の実施形態では、ポリヌクレオチド配列は、配列番号１９、２１、２３、２５、２７、４２、４４、４６、４８、５０、５２、５４、５６、５８、６０又は６３のアミノ酸配列をコードするヌクレオチド配列と少なくとも約６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、又は１００％同一の、抗α毒素抗体又は断片をコードするヌクレオチド配列を含み得る。一部の実施形態では、ポリヌクレオチド配列は、配列番号３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、３７又は３８のヌクレオチド配列と少なくとも約６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％又は１００％同一の、抗α毒素抗体又は断片をコードするヌクレオチド配列を含み得る。一部の実施形態では、抗α毒素抗体又は断片は、配列番号１９、２１、２３、２５、２７、４２、４４、４６、４８、５０、５２、５４、５６、５８、６０又は６３のアミノ酸配列をコードするヌクレオチド配列と少なくとも約９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％又は１００％の同一性を含むヌクレオチド配列を含む。
【０１２２】
特定の実施形態では、ポリヌクレオチド配列は、配列番号２０、２２、２４、２６、２８、４１、４３、４５、４７、４９、５１、５３、５５、５７、７９、５９、６１、又は６２のＶＨアミノ酸配列をコードするＶＨヌクレオチド配列と少なくとも約６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％又は１００％同一の、抗α毒素抗体又は断片をコードするヌクレオチド配列を含み得る。一部の実施形態では、ポリヌクレオチド配列は、配列番号３０、３２、３４、３６又は３８のＶＨヌクレオチド配列と少なくとも約６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％又は１００％同一の、抗α毒素抗体又は断片をコードするヌクレオチド配列を含み得る。一部の実施形態では、抗α毒素抗体又は断片は、配列番号２０、２２、２４、２６、２８、４１、４３、４５、４７、４９、５１、５３、５５、５７、７９、５９、６１、又は６２のアミノ酸配列をコードするヌクレオチド配列と少なくとも約９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％又は１００％の同一性を含むＶＨコードヌクレオチド配列によりコードされる。
【０１２３】
特定の実施形態では、ポリヌクレオチド配列は、配列番号１９、２１、２３、２５、２

７、４２、４４、４６、４８、５０、５２、５４、５６、５８、６０又は６３のＶＬアミノ酸配列をコードするＶＬヌクレオチド配列と少なくとも約６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％又は１００％同一の、抗α毒素抗体又は断片をコードするヌクレオチド配列を含み得る。一部の実施形態では、ポリヌクレオチド配列は、配列番号２９、３１、３３、３５又は３７のＶＬヌクレオチド配列と少なくとも約６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％又は１００％同一の、抗α毒素抗体又は断片をコードするヌクレオチド配列を含み得る。一部の実施形態では、抗α毒素抗体又は断片は、配列番号１９、２１、２３、２５、２７、４２、４４、４６、４８、５０、５２、５４、５６、５８、６０又は６３のアミノ酸配列をコードするヌクレオチド配列と少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％又は１００％の同一性を含むＶＬコードヌクレオチド配列によりコードされる。

【０１２４】

詳細な実施形態では、ポリヌクレオチド配列は、ＶＨアミノ酸配列と少なくとも約６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％又は１００％同一の抗α毒素抗体又は断片をコードするヌクレオチド配列、及びＶＬアミノ酸配列と少なくとも約６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％又は１００％同一の抗α毒素抗体又は断片をコードするヌクレオチド配列を含んでもよく、ここでＶＨ配列及びＶＬ配列は、配列番号２０及び１９；配列番号２２及び２１；配列番号２４及び２３；配列番号２６及び２５；配列番号２８及び２７；配列番号４１及び４２；配列番号４３及び４４；配列番号４５及び４６；配列番号４７及び４８；配列番号４７及び４８；配列番号４９及び５０；配列番号５１及び５２；配列番号５１及び５２；配列番号５３及び５４；配列番号５５及び５６；配列番号５７及び５８；配列番号５９及び６０；配列番号６１及び５８；配列番号６２及び５８；配列番号６２及び６３；配列番号７９及び６３により表される。

【０１２５】

実質的に同一の配列は、集団における多型配列、すなわち選択的配列又は対立遺伝子であってもよい。対立遺伝子の違いは１塩基対という小ささであり得る。実質的に同一の配列はまた、サイレント突然変異を含む配列を含め、突然変異を誘発された配列も含み得る。突然変異は、１つ以上の残基変化、１つ以上の残基の欠失、又は１つ以上のさらなる残基の挿入を含み得る。

【０１２６】

ポリヌクレオチドは、当該技術分野において公知の任意の方法により得て、そのようなポリヌクレオチドのヌクレオチド配列を決定し得る。例えば、抗体のヌクレオチド配列が分かっている場合、抗体をコードするポリヌクレオチドは、化学的に合成されたオリゴヌクレオチドから構築してもよく、これには、簡潔に言えば、抗体をコードする配列の部分を含む重複オリゴヌクレオチドの合成、それらのオリゴヌクレオチドのアニーリング及びライゲーション、及び次にライゲートしたオリゴヌクレオチドのＰＣＲによる増幅が関わる。

【０１２７】

抗体をコードするポリヌクレオチドはまた、好適な供給源由来の核酸から生成してもよい。特定の抗体をコードする核酸を含むクローンが利用できず、しかし抗体分子の配列は分かっている場合、免疫グロブリンをコードする核酸を化学的に合成するか、又は好適な供給源（例えば、抗体ｃＤＮＡライブラリ、又は、抗体を発現するように選択されるハイブリドーマ細胞などの、抗体を発現する任意の組織又は細胞から作成されるｃＤＮＡライブラリ、又はそれから単離される核酸、ときにポリＡ＋ＲＮＡ）から、ＰＣＲ増幅により、配列の３’及び５’末端とハイブリダイズ可能な合成プライマーを使用して、又はクローニングにより、特定の遺伝子配列に特異的なオリゴヌクレオチドプローブを使用して、それにより例えば、抗体をコードするｃＤＮＡライブラリからｃＤＮＡクローンを同定して得てもよい。次に、ＰＣＲにより生成された増幅核酸を、当該技術分野において公知の任意の方法を用いて複製可能なクローニングベクターにクローニングしてもよい。

【０１２８】

抗体のヌクレオチド配列及び対応するアミノ酸配列が決定されたら、例えば、組換えＤＮＡ技法、部位特異的突然変異誘発、ＰＣＲなど、ヌクレオチド配列を操作する当該技術分野において公知の方法を用いて抗体のヌクレオチド配列を操作し、異なるアミノ酸配列を有する抗体を生成することにより、例えば、アミノ酸置換、欠失、及び／又は挿入を生じさせてもよい。

【０１２９】

本明細書で使用されるとき、用語「ストリンジェントな条件」は、ハイブリダイゼーション及び洗浄の条件を指す。ハイブリダイゼーション反応温度条件を最適化する方法は、当業者に公知である。水系及び非水系の方法が当該の参考文献に記載され、いずれも用いることができる。ストリンジェントなハイブリダイゼーション条件の非限定的な例は、６×塩化ナトリウム／クエン酸ナトリウム（ＳＳＣ）中、セ氏約４５度でのハイブリダイゼーションと、続く０．２×ＳＳＣ中、０．１％ＳＤＳ、セ氏５０度での１回以上の洗浄である。ストリンジェントなハイブリダイゼーション条件の別の例は、６×塩化ナトリウム／クエン酸ナトリウム（ＳＳＣ）中、セ氏約４５度でのハイブリダイゼーションと、続く０．２×ＳＳＣ中、０．１％ＳＤＳ、セ氏５５度での１回以上の洗浄である。ストリンジェントなハイブリダイゼーション条件のさらなる例は、６×塩化ナトリウム／クエン酸ナトリウム（ＳＳＣ）中、セ氏約４５度でのハイブリダイゼーションと、続く０．２×ＳＳＣ中、０．１％ＳＤＳ、セ氏６０度での１回以上の洗浄である。多くの場合に、ストリンジェントなハイブリダイゼーション条件は、６×塩化ナトリウム／クエン酸ナトリウム（ＳＳＣ）中、セ氏約４５度でのハイブリダイゼーションと、続く０．２×ＳＳＣ中、０．１％ＳＤＳ、セ氏６５度での１回以上の洗浄である。より多くの場合に、ストリンジェンシー条件は、０．５Ｍリン酸ナトリウム、７％ＳＤＳ、セ氏６５度と、続く０．２×ＳＳＣ、１％ＳＤＳ、セ氏６５度での１回以上の洗浄である。ストリンジェントなハイブリダイゼーション温度はまた、特定の有機溶媒、例えばホルムアミドの添加によっても変わり得る（すなわち低下し得る）。ホルムアミドなどの有機溶媒は二本鎖ポリヌクレオチドの熱安定性を低下させ、そのためハイブリダイゼーションをより低い温度で実施することができ、それでもなおストリンジェントな条件は維持され、熱に不安定であり得る核酸の有用寿命が延長され得る。

【０１３０】

本明細書で使用されるとき、語句「ハイブリダイズする」又はその文法的な変形は、低度、中程度又は高度のストリンジェンシー条件下、又は核酸合成条件下で第１の核酸分子を第２の核酸分子と結合することを指す。ハイブリダイズすることには、第１の核酸分子と第２の核酸分子とが相補的な場合に、第１の核酸分子が第２の核酸分子と結合する例が含まれ得る。本明細書で使用されるとき、「特異的にハイブリダイズする」は、核酸合成条件下でプライマーを、そのプライマーと相補的な配列を有する核酸分子と、相補配列を有しない核酸分子とのハイブリダイゼーションと比べて選択的にハイブリダイズすることを指す。例えば、特異的なハイブリダイゼーションには、プライマーをそのプライマーと相補的な標的核酸配列とハイブリダイズすることが含まれる。

【０１３１】

一部の実施形態では、プライマーは、固相核酸プライマーハイブリダイゼーション配列と相補的、又は固相核酸プライマーハイブリダイゼーション配列と実質的に相補的（例えば、アラインメントしたときにプライマーハイブリダイゼーション配列相補体と約７５％、７６％、７７％、７８％、７９％、８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％又は９９％を上回って同一）であってよいヌクレオチド部分配列を含み得る。プライマーは、固相核酸プライマーハイブリダイゼーション配列と相補的でない又はそれと実質的に相補的でないヌクレオチド部分配列を（例えば、固相プライマーハイブリダイゼーション配列と相補的な又はそれと実質的に相補的なプライマーにおけるヌクレオチド部分配列の３’末端又は５’末端に）含み得る。

【０１３２】

プライマーは、特定の実施形態では、イノシン、脱塩基部位、ロックド核酸、副溝結合剤、二重鎖安定剤（例えば、アクリジン、スペルミジン）、Ｔｍ調整剤又はプライマー若しくはプローブの結合特性を変化させる任意の調整剤などの修飾を含み得る。

【０１３３】

プライマーは、特定の実施形態では、検出可能な分子又は実体（例えば、フルオロフォア、放射性同位体、呈色剤、粒子、酵素など）を含み得る。望ましい場合、核酸は、当業者に公知の任意の方法を用いて検出可能標識を含むように修飾することができる。標識は、合成の一部として組み込んでもよく、又は本明細書に記載される方法のいずれかにおいてプライマーを使用する前に加えてもよい。標識の組み込みは液相中又は固相上のいずれで実施してもよい。一部の実施形態では、検出可能標識は標的の検出に有用であり得る。一部の実施形態では、検出可能標識は標的核酸の定量化（例えば、核酸の特定の配列又は種のコピー数の決定）に有用であり得る。ある系における相互作用又は生物活性の検出に好適な任意の検出可能標識を、当業者は適切に選択して利用することができる。検出可能標識の例は、フルオレセイン、ローダミンなどの蛍光標識（例えば、Ａｎａｎｔｈａ，ｅｔ　ａｌ．，Ｂｉｏｃｈｅｍｉｓｔｒｙ（１９９８）３７：２７０９　２７１４；及びＱｕ　＆　Ｃｈａｉｒｅｓ，Ｍｅｔｈｏｄｓ　Ｅｎｚｙｍｏｌ．（２０００）３２１：３５３　３６９）；放射性同位体（例えば、１２５Ｉ、１３１Ｉ、３５Ｓ、３１Ｐ、３２Ｐ、３３Ｐ、１４Ｃ、３Ｈ、７Ｂｅ、２８Ｍｇ、５７Ｃｏ、６５Ｚｎ、６７Ｃｕ、６８Ｇｅ、８２Ｓｒ、８３Ｒｂ、９５Ｔｃ、９６Ｔｃ、１０３Ｐｄ、１０９Ｃｄ、及び１２７Ｘｅ）；光散乱標識（例えば、米国特許第６，２１４，５６０号明細書、及びＧｅｎｉｃｏｎ　Ｓｃｉｅｎｃｅｓ　Ｃｏｒｐｏｒａｔｉｏｎ，Ｃａｌｉｆｏｒｎｉａからの市販品）；化学発光標識及び酵素基質（例えば、ジオキセタン及びアクリジニウムエステル）、酵素標識又はタンパク質標識（例えば、緑色蛍光タンパク質（ＧＦＰ）又はその色違い、ルシフェラーゼ、ペルオキシダーゼ）；他の発色標識又は色素（例えば、シアニン）、及び他の補因子又は生体分子、例えばジゴキシゲニン、ストレプトアビジン、ビオチン（例えば、結合対、例えばビオチン及びアビジンなどのメンバー）、親和性捕捉部分などである。一部の実施形態では、プライマーは親和性捕捉部分で標識されてもよい。また、検出可能標識には、質量分析法（例えば、マトリックス支援レーザー脱離イオン化（ＭＡＬＤＩ）質量分析法及びエレクトロスプレー（ＥＳ）質量分析法）による検出のための大量修飾に有用な標識も含まれる。

【０１３４】

プライマーはまた、標的核酸の部分配列又は別のプライマーとハイブリダイズするポリヌクレオチド配列であって、例えば分子ビーコンと同様に、プライマー、標的核酸又はその双方の検出を促進するポリヌクレオチド配列を指すこともある。用語「分子ビーコン」は、本明細書で使用されるとき、検出可能な分子であって、ある特定の条件下においてのみ分子の検出可能な特性を検出可能であり、それにより特異的且つ情報を提供するシグナルとして機能できる分子を指す。検出可能な特性の非限定的な例は、光学的特性、電気的特性、磁気的特性、化学的特性及び既知の大きさの開口を通る時間又は速度である。

【０１３５】

一部の実施形態では、分子ビーコンは、ステム－ループ構造の形成能を有する一本鎖オリゴヌクレオチドであることができ、ここでループ配列は、目的の標的核酸配列と相補的であってもよく、且つステムを形成することのできる短い相補的なアームが隣接している。オリゴヌクレオチドは、一端でフルオロフォアにより標識され、他端で消光剤分子により標識されてもよい。ステム－ループの立体構造では、励起フルオロフォアからのエネルギーが、蛍光共鳴エネルギー転移、すなわちＦＲＥＴで見られるのと同様の遠距離双極子－双極子カップリングを介して消光剤に伝達され、光ではなく、熱として放出される。ループ配列が特定の標的配列とハイブリダイズすると、分子の両端が分離し、励起フルオロフォアからのエネルギーが光として放出され、検出可能なシグナルが生じる。分子ビーコンは、ハイブリダイズされなかったプローブの自己消光的な性質により、過剰なプローブの除去が不要であるというさらなる利点を提供する。一部の実施形態では、分子ビーコン

プローブは、ループ－標的ハイブリダイゼーション及びステム形成の相対的な強度を調節することにより、ループと標的配列との間のミスマッチを区別するか、或いは許容するように設計することができる。本明細書において参照されるとき、用語「ミスマッチヌクレオチド」又は「ミスマッチ」は、当該の１つ又は複数の位置で標的配列と相補的でないヌクレオチドを指す。プローブは少なくとも１つのミスマッチを有し得るが、２、３、４、５、６又は７個又はそれ以上のミスマッチヌクレオチドを有することもある。

【０１３６】

抗α毒素抗体及び断片の生物学的特性

抗体は、本明細書に記載される抗体と同一又は同様の１つ以上の特性を有してもよく、多くの場合に、その抗体を、同じ抗原α毒素に結合する他の抗体と区別する生物学的特性の１つ以上を備える。本明細書で使用されるとき、抗体の「生物学的特性」は、生化学的特性、結合特性及び機能的特性の任意の１つ以上を指し、それを用いて治療、研究、及び診断用途の抗体を選択することができる。例えば、抗α毒素抗体及び断片は、例えばエピトープ結合性、標的性、親和性、中和性、及びオリゴマー形成又はヘプタマー膜孔複合体形成の阻害に関して同じか、又は異なり得る。

【０１３７】

抗α毒素抗体又は断片の生化学的特性としては、限定はされないが、等電点（ｐＩ）及び融解温度（Ｔｍ）が挙げられる。抗α毒素抗体又は断片の結合特性としては、限定はされないが、結合特異性；解離定数（K_d）、又はその逆、会合定数（K_a）、又はその成分k_{on}若しくはk_{off}速度；それが結合するエピトープ；α毒素の様々な型及び／又は調製（例えば、組換え、天然、アセチル化）の識別能及び可溶性抗原及び／又は固定化抗原との結合能が挙げられる。本明細書に提示される抗体の機能的特性としては、限定はされないが、α毒素受容体結合の阻害、α毒素オリゴマー形成の阻害、α毒素発現又は活性に応答したカスケード反応によって誘導される遺伝子発現の阻害、α毒素を発現する細胞の枯渇、α毒素を発現する細胞の成長阻害、α毒素の局在化の阻害、及び１つ以上の黄色ブドウ球菌（Ｓ．ａｕｒｅｕｓ）、α毒素又は黄色ブドウ球菌（Ｓ．ａｕｒｅｕｓ）及びα毒素関連疾患又は障害の防御が挙げられる。本明細書には、抗α毒素抗体及び断片の特性並びにそれらの特性を修飾及び微調整する方法が記載される。抗体の特性の計測方法は当該技術分野において公知であり、その一部を以下に詳述する。

【０１３８】

結合特性

上記に記載したとおり、抗α毒素抗体又は断片は、タンパク質、ペプチド、サブユニット、断片、部分又はそれらの任意の組み合わせの少なくとも１つの特定のエピトープ又は抗原決定基と、他のポリペプチドと比べて排他的又は選択的に、免疫特異的に結合する。用語「エピトープ」又は「抗原決定基」は、本明細書で使用されるとき、抗体との結合能を有するタンパク質決定基を指し、ここで用語「結合する」は、本明細書では、多くの場合に特異的結合に関する。このようなタンパク質決定基又はエピトープは、多くの場合にアミノ酸又は糖側鎖などの分子の化学的に活性な表面基を含み、これは多くの場合に特異的な三次元構造特性を有し、且つ多くの場合に特異的な電荷特性を有する。立体構造エピトープと非立体構造エピトープとは、変性溶媒の存在下で前者との結合は失われるが、後者との結合は失われない点で区別される。用語「不連続エピトープ」は、本明細書で使用されるとき、タンパク質の一次配列において少なくとも２つの別個の領域から形成されるタンパク質抗原上の立体構造エピトープを指す。

【０１３９】

特定の実施形態では、抗α毒素抗体又は断片は、黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ａｕｒｅｕｓ）α毒素及びその、α毒素オリゴマー形成に関連する抗原断片に免疫特異的に結合する。一部の実施形態では、抗α毒素抗体又は断片は、α毒素、又は配列番号３９又は４０の少なくとも任意の３個の連続するアミノ酸に免疫特異的に結合する。一部の実施形態では、エピトープは、α毒素タンパク質の連続するアミノ酸の特定の部分全体に対する少なくとも４個のアミノ酸残基、少なくとも５個のアミノ酸残基、少な

くとも６個のアミノ酸残基、少なくとも７個のアミノ酸残基、少なくとも８個のアミノ酸残基又は少なくとも９個のアミノ酸残基である。特定の実施形態では、接触残基は、Ｔ２６１、Ｔ２６３、Ｎ２６４、Ｋ２６６及びＫ２７１を含む。他の実施形態において、接触残基は、配列番号３９のＮ１７７、Ｗ１７９、Ｇ１８０、Ｐ１８１、Ｙ１８２、Ｄ１８３、Ｄ１８５、Ｓ１８６、Ｗ１８７、Ｎ１８８、Ｐ１８９、Ｖ１９０、Ｙ１９１及びＲ２００を含む。さらなる実施形態では、接触残基は、配列番号３９のＮ１７７、Ｗ１７９、Ｇ１８０、Ｐ１８１、Ｙ１８２、Ｄ１８３、Ｄ１８５、Ｓ１８６、Ｗ１８７、Ｎ１８８、Ｐ１８９、Ｖ１９０、Ｙ１９１、Ｒ２００、Ｔ２６１、Ｔ２６３、Ｎ２６４、Ｋ２６６及びＫ２７１を含む。特定の実施形態では、抗体又はその抗原結合断片と接触するα毒素の一部分は、配列番号３９のアミノ酸２６１～２７２を含む。他の実施形態において、抗体又はその抗原結合断片と接触するα毒素の一部分は、配列番号３９のアミノ酸２４８～２７７を含む。他の実施形態において、抗体又はその抗原結合断片と接触するα毒素の一部分は、配列番号３９のアミノ酸１７３～２０１及び２６１～２７２を含む。

【０１４０】

様々な実施形態において、抗α毒素抗体又はそのα毒素オリゴマー形成に関連する断片は、配列番号３９又は４０のアミノ酸配列と少なくとも６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％の同一性、又は１００％の同一性を有するα毒素ポリペプチド又はその抗原断片と免疫特異的に結合する。抗α毒素抗体又は断片は、ときに、配列番号３９又は４０のアミノ酸配列と少なくとも９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％の同一性、又は１００％の同一性を有するα毒素ポリペプチド又はその抗原断片に免疫特異的に結合し得る。

【０１４１】

特定の実施形態では、抗α毒素抗体又は断片は、種間で保存されているエピトープと結合し得る。一部の実施形態では、抗α毒素抗体又は断片は、黄色ブドウ球菌（Ｓ．ａｕｒｅｕｓ）α毒素及び他の細菌種由来のα毒素ホモログ又はオルソログ及びその抗原断片と結合する。一部の実施形態では、抗α毒素抗体又は断片は、１つ以上のα毒素オルソログ及び／又はアイソフォームに結合し得る。特定の実施形態では、抗α毒素抗体又は断片は、α毒素ホモログ又はオルソログを有する１つ以上の細菌種由来のα毒素及びそのα毒素オリゴマー形成に関連する抗原断片に結合する。特定の実施形態では、抗α毒素抗体又は断片は、全てのα毒素ホモログ及び／又はアイソフォーム及び／又は立体構造変異体及び／又はサブタイプにわたってスタフィロコッカス属（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ）又は他の近縁の細菌の範囲内のエピトープと結合し得る。

【０１４２】

抗原と抗体との間の相互作用は、多くの場合に他の非共有結合性のタンパク質間相互作用と同じである。一般に、抗原と抗体との間には４種類の結合相互作用が存在する：（ｉ）水素結合、（ｉｉ）分散力、（ｉｉｉ）ルイス酸とルイス塩基との間の静電力、及び（ｉｖ）疎水性相互作用。疎水性相互作用は、抗体－抗原相互作用の大きい推進力であり、分子の引力というよりむしろ、非極性基による水の反発作用に基づく。しかしながら、特定の物理的力、例えば種々の抗体結合部位に対するエピトープ形状の適合性又は相補性もまた、抗原－抗体結合に寄与する。他の材料及び抗原は抗体と交差反応し得るため、従って利用可能な遊離抗体に関して競合し得る。

【０１４３】

抗原と抗体との間の結合の親和性定数及び特異性の計測は、多くの場合に抗α毒素抗体及び断片を用いた治療、診断及び研究方法の有効性を決定する一要素である。「結合親和性」は、概して、分子（例えば抗体）の単一の結合部位とその結合パートナー（例えば抗原）との間の非共有結合性の相互作用の合計強度を指す。特に指示がない限り、本明細書で使用されるとき、「結合親和性」は、結合対（例えば、抗体及び抗原）のメンバー間の１：１の相互作用を反映する固有の結合親和性を指す。分子Ｘのそのパートナー Ｙに対する親和性は、概して、ｋｏｆｆ／ｋｏｎ比として計算される平衡解離定数（K_d）により表すことができる。親和性は、本明細書に記載及び例示されるものを含め（例えば、Ｂｉ

ａＣｏｒｅ法）、当該技術分野において公知の一般的な方法により計測することができる。低親和性抗体は、概して抗原とゆっくり結合し、且つ容易に解離する傾向を有する一方、高親和性抗体は、概して抗原とより速く結合し、且つより長く結合したままとどまる傾向がある。結合親和性の様々な計測方法が当該技術分野において公知であり、本技術の目的のためにそのいずれを用いることもできる。

【０１４４】

抗α毒素抗体又は断片は、ときに、１×１０$^{-2}$Ｍ以下、１×１０$^{-3}$Ｍ以下、１×１０$^{-4}$Ｍ以下、１×１０$^{-5}$Ｍ以下、１×１０$^{-6}$Ｍ以下、１×１０$^{-7}$Ｍ以下、１×１０$^{-8}$Ｍ以下、１×１０$^{-9}$Ｍ以下、１×１０$^{-10}$Ｍ以下、１×１０$^{-11}$Ｍ以下、１×１０$^{-12}$Ｍ以下、１×１０$^{-13}$Ｍ以下、１×１０$^{-14}$Ｍ以下又は１×１０$^{-15}$Ｍ以下の解離定数（K_d）により特徴付けられるα毒素エピトープに対する結合親和性を有する。例えば、K_dは、１×１０$^{-15}$Ｍ～１×１０$^{-2}$Ｍ、１×１０$^{-14}$Ｍ～１×１０$^{-10}$Ｍ、１×１０$^{-9}$Ｍ～１×１０$^{-5}$Ｍ及び１×１０$^{-4}$Ｍ～１×１０$^{-2}$Ｍであってもよい。

【０１４５】

特定の実施形態では、抗α毒素抗体及び断片は高親和性抗体である。「高親和性抗体」とは、１０$^{-8}$Ｍ未満（例えば、１０$^{-9}$Ｍ、１０$^{-10}$Ｍなど）の親和性でα毒素エピトープに結合する抗体を意味する。

【０１４６】

特定の実施形態では、抗α毒素抗体又は断片は、特定のモル濃度又はそれより良好な結合親和性を有するものとして記載される。「又はそれより良好な」は、本明細書で使用されるとき、より小さい数値のK_d値によって表されるより強い結合を指す。例えば、抗原に対して「０．６ｎＭ又はそれより良好な」親和性を有する抗体は、抗原に対する抗体の親和性が＜０．６ｎＭ、すなわち、０．５９ｎＭ、０．５８ｎＭ、０．５７ｎＭなど、又は０．６ｎＭ未満の任意の値である。

【０１４７】

一部の実施形態では、抗α毒素抗体又は断片の親和性は、ｋｏｎ／ｋｏｆｆの比として計算される会合定数（K_a）の観点で記載される。この例では、本抗α毒素抗体及び断片は、α毒素エピトープに対して、１×１０^{2}Ｍ$^{-1}$以上、１×１０^{3}Ｍ$^{-1}$以上、１×１０Ｍ$^{-1}$以上、１×１０^{5}Ｍ$^{-1}$以上、１×１０^{6}Ｍ$^{-1}$以上、１×１０^{7}Ｍ$^{-1}$以上、１×１０^{8}Ｍ$^{-1}$以上、１×１０^{9}Ｍ$^{-1}$以上、１×１０^{10}Ｍ$^{-1}$以上、１×１０^{11}Ｍ$^{-1}$以上、１×１０^{12}Ｍ$^{-1}$以上、１×１０^{13}Ｍ$^{-1}$以上、１×１０^{14}Ｍ$^{-1}$以上又は１×１０^{15}Ｍ$^{-1}$以上の会合定数（K_a）を含む結合親和性を有する。例えば、K_aは、１×１０^{2}Ｍ$^{-1}$～１×１０^{7}Ｍ$^{-1}$、１×１０^{7}Ｍ$^{-1}$～１×１０^{10}Ｍ$^{-1}$、及び１×１０^{10}Ｍ$^{-1}$～１×１０^{15}Ｍ$^{-1}$であってもよい。

【０１４８】

特定の実施形態では、抗α毒素抗体又は断片がα毒素エピトープから解離する速度が関係し得る。一部の実施形態では、抗α毒素抗体又は断片は、１０$^{-3}$ｓ$^{-1}$未満、５×１０$^{-3}$ｓ$^{-1}$未満、１０$^{-4}$ｓ$^{-1}$未満、５×１０$^{-4}$ｓ$^{-1}$未満、又は１０$^{-5}$ｓ$^{-1}$未満のk_{off}でα毒素に結合し得る。一部の実施形態では、抗α毒素抗体及び断片がα毒素エピトープと会合する速度が、K_d又はK_aの値より強く関係し得る。この例では、本抗α毒素抗体及び断片は、少なくとも１０$^{-4}$Ｍ$^{-1}$ｓ$^{-1}$、少なくとも５×１０$^{-4}$Ｍ$^{-1}$ｓ$^{-1}$、少なくとも１０^{5}Ｍ$^{-1}$ｓ$^{-1}$、少なくとも５×１０^{5}Ｍ$^{-1}$ｓ$^{-1}$、少なくとも１０^{6}Ｍ$^{-1}$ｓ$^{-1}$、少なくとも５×１０^{6}Ｍ$^{-1}$ｓ$^{-1}$、少なくとも１０^{7}Ｍ$^{-1}$ｓ$^{-1}$のk_{on}速度でα毒素に結合する。

【０１４９】

結合親和性の決定は、実施例の節にさらに記載される特定の技術（実施例１を参照）、及び当該技術分野において公知の方法を用いて計測することができる。かかる方法の一例には、漸変系列の未標識抗原の存在下でＦａｂを最小濃度の（^{125}Ｉ）標識抗原で平衡化し、次に抗Ｆａｂ抗体で被覆したプレートで結合抗原を捕捉することにより、抗原に対

するＦａｂの溶液結合親和性を計測する以下のアッセイにより記載されるとおり、目的の抗体のＦａｂ型及びその抗原で実施される放射性標識抗原結合アッセイ（ＲＩＡ）による解離定数「K_d」の計測が含まれる。アッセイ条件を確立するため、マイクロタイタープレート（Ｄｙｎｅｘ）を５０ｍＭ炭酸ナトリウム（Ｈ９．６）中５μｇ／ｍｌの捕捉抗Ｆａｂ抗体（Ｃａｐｐｅｌ　Ｌａｂｓ）で一晩コーティングし、続いてＰＢＳ中２％（ｗ／ｖ）ウシ血清アルブミンにより室温（セ氏約２３度）で２～５時間ブロックする。非吸着性プレート（Ｎｕｎｃ　＃２６９６２０）において、１００ｐＭ又は２６ｐＭの［１２５Ｉ］抗原を目的のＦａｂの段階希釈物と混合する。次に目的のＦａｂを一晩インキュベートする；しかしながら、このインキュベーションは、確実に平衡に達するようにさらに長時間（例えば６５時間）続行してもよい。その後、混合物を捕捉プレートに移して室温で（例えば1時間）インキュベートする。次に溶液を除去し、プレートをＰＢＳ中０．１％Ｔｗｅｅｎ－２０で８回洗浄する。プレートを乾燥させたところで、１５０μｌ／ウェルの発光物質（ＭｉｃｒｏＳｃｉｎｔ－２０；Ｐａｃｋａｒｄ）を添加し、プレートをＴｏｐｃｏｕｎｔガンマカウンター（Ｐａｃｋａｒｄ）で１０分間カウントする。最大結合の２０％以下が得られる各Ｆａｂの濃度を、競合的結合アッセイでの使用に選択する。

【０１５０】

別の例では、表面プラズモン共鳴アッセイを用いてK_d値を計測してもよく、このアッセイは、例えば、約１０反応単位（ＲＵ）の固定化された抗原ＣＭ５チップを備えるＢＩＡｃｏｒｅ（商標）－２０００又はＢＩＡｃｏｒｅ（商標）－３０００（ＢＩＡｃｏｒｅ，Ｉｎｃ．，Ｐｉｓｃａｔａｗａｙ，Ｎｅｗ　Ｊｅｒｓｅｙ）をセ氏２５度で使用して実施することができる。簡潔に言えば、かかる方法の例では、カルボキシメチル化されたデキストランバイオセンサーチップ（ＣＭ５，ＢＩＡｃｏｒｅ　Ｉｎｃ．）を、供給業者の指示に従いＮ－エチル－Ｎ’－（３－ジメチルアミノプロピル）－カルボジイミド塩酸塩（ＥＤＣ）及びＮ－ヒドロキシスクシンイミド（ＮＨＳ）で活性化する。抗原を１１０ｍＭ酢酸ナトリウム、ｐＨ４．８で５μｇ／マイクロリットル（約０．２ｕＭ）に希釈してから５μｌ／分の流量で注入することにより、約１０反応単位（ＲＵ）の結合タンパク質を達成する。抗原の注入後、ＩＭエタノールアミンを注入して未反応基をブロックする。動態計測のため、２倍のＦａｂ段階希釈物（０．７８ｎＭ～５００ｎＭ）を、セ氏２５度の０．０５％Ｔｗｅｅｎ　２０（ＰＢＳＴ）含有ＰＢＳに約２５μｌ／分の流量で注入する。会合及び解離センサグラムを同時にフィットすることにより単純な一対一のラングミュア結合モデル（ＢＩＡｃｏｒｅ評価ソフトウェア、バージョン３．２）を使用して、会合速度（ｋｏｎ）及び解離速度（ｋｏｆｆ）を計算する。

【０１５１】

上記の表面プラズモン共鳴アッセイによりｏｎ速度が10^6Ｍ－１ｓ－１を超える場合、ｏｎ速度は、例えば、蛍光消光技法を用いることにより決定することができ、この技法は、撹拌キュベットを備えた、ストップフローが装備された分光光度計（Ａｖｉｖ　Ｉｎｓｔｒｕｍｅｎｔｓ）又は８０００シリーズＳＬＭ－Ａｍｉｎｃｏ分光光度計（ＴｈｅｒｍｏＳｐｅｃｔｒｏｎｉｃ）などの分光計で計測するときの、漸増濃度の抗原の存在下、ＰＢＳ、ｐＨ７．２中の２０ｎＭ抗抗原抗体（Ｆａｂ形態）の、セ氏２５度における蛍光放射強度（励起＝２９５ｎｍ；発光＝３４０ｎｍ、１６ｎｍバンドパス）の増加又は減少を計測するものである。この技法に係る「ｏｎ速度」又は「会合の速度」又は「会合速度」又は「ｋｏｎ」はまた、上記に記載される同じ表面プラズモン共鳴技法により、上記に記載したとおりＢＩＡｃｏｒｅ（商標）－２０００又はＢＩＡｃｏｒｅ（商標）－３０００（ＢＩＡｃｏｒｅ，Ｉｎｃ．，Ｐｉｓｃａｔａｗａｙ，ＮｅｗＪｅｒｓｅｙ）を使用して決定することができる。

【０１５２】

提示される単離抗体又はその抗原結合断片、又はその改変／突然変異誘導体（以下に考察）の結合特性の決定に好適な方法及び試薬は、当該技術分野において公知であり、及び／又は市販されている。かかる動態解析用に設計された機器及びソフトウェアは、市販されている（例えば、Ｂｉａｃｏｒｅ（登録商標）Ａ１００、及びＢｉａｃｏｒｅ（登録商

標）２０００機器；Ｂｉａｃｏｒｅ Ｉｎｔｅｒｎａｔｉｏｎａｌ ＡＢ，Ｕｐｐｓａｌａ，Ｓｗｅｄｅｎ）。

【０１５３】

一部の実施形態では、結合アッセイは、直接的な結合アッセイとして実施されても、又は競合結合アッセイとして実施されてもよい。結合は、標準的なＥＬＩＳＡ又は標準的なフローサイトメトリーアッセイを用いて検出することができる。直接的な結合アッセイでは、α毒素抗原との結合について候補抗体を試験する。他方で、競合結合アッセイは、候補抗体が既知の抗α毒素抗体若しくは断片又はα毒素と結合する他の化合物（例えば、受容体、阻害剤）と競合する能力を評価する。概して抗体のα毒素との検出可能な結合を可能にする任意の方法が、抗体の結合特性を検出及び／又は計測するための本技術の範囲に包含される。これらの方法を利用して、所望の特性を提供する抗体について抗体パネルをスクリーニングすることもできる。

【０１５４】

特定の実施形態では、単離抗体又はその抗原結合断片はα毒素と免疫特異的に結合し、且つ以下からなる群から選択される特性の１つ以上を有する：

（ａ）約１３ｎＭ以下のα毒素に対する親和性定数（K_D）；

（ｂ）α毒素モノマーに結合するが、α毒素のα毒素受容体との結合は阻害しない；

（ｃ）α毒素オリゴマーの形成を少なくとも５０％、６０％、７０％、８０％、９０％又は９５％阻害する；

（ｄ）α毒素の細胞溶解活性を（例えば、細胞溶解及び溶血アッセイ（ｃｅｌｌ ｌｙｓｉｓ ａｄｄ ｈｅｍｏｌｙｓｉｓ ａｓｓａｙ）により決定されるとき）少なくとも５０％、６０％、７０％、８０％、９０％又は９５％低下させる；

（ｅ）細胞浸潤及び炎症誘発性サイトカイン放出を（例えば、動物肺炎モデルにおいて）低下させる。

【０１５５】

一部の実施形態では、単離抗体又はその抗原結合断片は、約０．０１ｎＭ～約５０ｎＭ、０．０５ｎＭ、０．１ｎＭ、０．５ｎＭ、１ｎＮ、５ｎＭ、１０ｎＭ、２０ｎＭ、３０ｎＭ、又は４０ｎＭの範囲の解離定数（K_D）により特徴付けられる親和性で抗原（例えばα毒素）と結合する。

【０１５６】

機能的特性

特定の実施形態では、抗α毒素抗体又は断片はα毒素及び／又はα毒素発現細胞の生物学的特性を変化させる。一部の実施形態では、抗α毒素抗体又は断片は、ポリペプチドに結合し、且つα毒素モノマーが集合して膜貫通孔（例えばα毒素ヘプタマー）になることを阻害することにより、α毒素の生物活性を中和する。中和アッセイは、場合によっては市販の試薬を使用して、当該技術分野で公知の方法を用いて実施することができる。α毒素の中和は、多くの場合に、1×10^{-6}Ｍ以下、1×10^{-7}Ｍ以下、1×10^{-8}Ｍ以下、1×10^{-9}Ｍ以下、1×10^{-10}Ｍ以下及び1×10^{-11}Ｍ以下のＩＣ５０で計測される。特定の実施形態では、中和は、黄色ブドウ球菌（Ｓ．ａｕｒｅｕｓ）毒素と免疫特異的に結合する抗体又は抗原結合断片が、実施例３～６に記載されるとおりの濃度であるときに起こる。特定の実施形態では、抗α毒素抗体又は断片は、α毒素がオリゴマー化して膜貫通孔を形成する能力を中和する。用語「５０％阻害濃度」（「ＩＣ５０」と省略される）は、阻害剤（例えば、本明細書に提供される抗α毒素抗体又は断片）がその阻害剤の標的分子の所与の活性（例えば、α毒素のオリゴマー化による膜貫通孔ヘプタマー複合体の形成）の５０％を阻害するのに必要な濃度を表す。概してより低いＩＣ５０値がより強力な阻害剤に対応する。

【０１５７】

特定の実施形態では、抗α毒素抗体又は断片は、α毒素の１つ以上の生物活性を阻害する。用語「阻害」は、本明細書で使用されるとき、活性の完全な遮断を含め、生物活性の任意の統計的に有意な低下を指す。例えば、「阻害」は、生物活性の約１０％、２０％、

３０％、４０％、５０％、６０％、７０％、８０％、９０％、又は１００％の低下を指す。特定の実施形態では、抗α毒素抗体又は断片はα毒素の１つ以上の生物活性を少なくとも１０％、２０％、３０％、４０％、５０％、６０％、７０％、８０％、９０％、又は１００％阻害する。

【０１５８】

一部の実施形態では、抗α毒素抗体又は断片は、病原性黄色ブドウ球菌（Ｓ．ａｕｒｅｕｓ）により分泌されるα毒素を枯渇させ得る。一部の実施形態では、抗α毒素抗体又は断片は、黄色ブドウ球菌（Ｓ．ａｕｒｅｕｓ）により分泌されるα毒素の少なくとも約２０％、少なくとも約３０％、少なくとも約４０％、少なくとも約５０％、少なくとも約６０％、少なくとも約７０％、少なくとも約８０％、少なくとも約９０％、少なくとも約９５％、又は約１００％の枯渇を達成し得る。詳細な実施形態では、事実上全ての検出可能な分泌α毒素が、黄色ブドウ球菌（Ｓ．ａｕｒｅｕｓ）に感染した細胞から枯渇する。

【０１５９】

特定の実施形態では、抗α毒素抗体又は断片は、インビトロで刺激されたα毒素活性（例えば、受容体結合、オリゴマー形成）及び／又はα毒素を発現又は分泌する細胞の増殖を阻害する。抗α毒素抗体又は断片は、ときにインビトロα毒素活性の黄色ブドウ球菌（Ｓ．ａｕｒｅｕｓ）病原性を少なくとも約１０％、少なくとも約２０％、少なくとも約３０％、少なくとも約４０％、少なくとも約５０％又は少なくとも約７５％阻害する。細胞増殖、病原性、及びα溶血素活性の計測方法は、当該技術分野において公知である。

【０１６０】

特定の実施形態では、抗α毒素抗体又は断片は、黄色ブドウ球菌（Ｓ．ａｕｒｅｕｓ）感染及び／又はα毒素発現及び機能により作り出された環境に直接的又は間接的に反応する１つ以上の誘導性遺伝子の発現を阻害し得る。具体的な実施形態において、抗α毒素抗体又は断片は、黄色ブドウ球菌（Ｓ．ａｕｒｅｕｓ）感染及び／又はα毒素発現及び機能により作り出された環境に直接的又は間接的に反応する１つ以上の誘導性遺伝子の発現を、少なくとも２０％、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％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、少なくとも１００％、少なくとも１２０％、少なくとも１４０％、少なくとも１６０％、少なくとも１８０％、又は少なくとも２００％阻害する。

【０１６１】

抗α毒素抗体及び断片の産生

以下は、抗体を産生する例示的技法について記載する。抗体の産生に用いるα毒素抗原は、例えばα毒素ペプチド配列のうちオリゴマー形成に関与する領域を含むペプチド断片であってもよい。α毒素に対する抗体は、配列番号３９を含む天然の黄色ブドウ球菌（Ｓ．ａｕｒｅｕｓ）α毒素、又は配列番号４０を含む変異α毒素、その変異体、又は抗原断片を使用して生成することができる。また、α毒素を発現及び分泌する黄色ブドウ球菌（Ｓ．ａｕｒｅｕｓ）細胞を使用しても抗体を生成することができる。α毒素のヌクレオチド及びアミノ酸配列の例は、例えば表１０に提供されるとおり入手可能である。α毒素は、標準的な組換えＤＮＡ方法を用いて細菌細胞又は真核細胞から単離形態で組換え産生することができる。α毒素をタグ付き（例えば、エピトープタグ）又は他の融合タンパク質（例えば、ＧＳＴ融合）として発現させて、様々なアッセイにおける単離並びに同定を促進することができる。以下に記載するとおり、様々なタグ及び融合配列に結合する抗体又は結合性タンパク質が利用可能である。抗体の生成に有用な他の形態のα毒素もまた使用することができる。

【０１６２】

様々なタグポリペプチド及びそのそれぞれの抗体は、当該技術分野において公知である。例としては、ポリ－ヒスチジン（ポリ－ｈｉｓ）タグ又はポリ－ヒスチジン－グリシン（ポリ－ｈｉｓ－ｇｌｙ）タグ；ｆｌｕ　ＨＡタグポリペプチド及びその抗体１２ＣＡ５；ｃ－ｍｙｃタグ及びそれに対する８Ｆ９、３Ｃ７、６Ｅ１０、Ｇ４、Ｂ７及び９Ｅ１０抗体；及び単純ヘルペスウイルス糖タンパク質Ｄ（ｇＤ）タグ及びその抗体が挙げられる

。ＦＬＡＧペプチドは、抗ＦＬＡＧ　Ｍ２モノクローナル抗体により認識される。ＦＬＡＧペプチドを含むタンパク質の精製は、アガロースに共有結合的に結合した抗ＦＬＡＧ　Ｍ２モノクローナル抗体を含む親和性基質を使用するイムノアフィニティークロマトグラフィーによって実施することができる。他のタグポリペプチドとしては、ＫＴ３エピトープペプチド；α－チューブリンエピトープペプチド；及びＴ７遺伝子１０タンパク質ペプチドタグが挙げられる。

【０１６３】

目的の抗原に対するポリクローナル抗体は、当該技術分野において公知の様々な手順により産生することができる。例えば、α毒素ポリペプチド又はその免疫原性断片を、限定はされないが、ウサギ、マウス、ラットなどを含む様々な宿主動物に投与することにより、その抗原に特異的なポリクローナル抗体を含む血清の生成を誘導することができる。宿主種に応じて様々なアジュバントを使用して免疫応答を増加させることができ、限定はされないが、フロイント（完全及び不完全）、ミネラルゲル、例えば水酸化アルミニウム、界面活性物質、例えばリゾレシチン、プルロニック（ｐｌｕｒｏｎｉｃ）ポリオール、ポリアニオン、ペプチド、油乳剤、キーホールリンペットヘモシアニン、ジニトロフェノール、及び潜在的に有用なヒトアジュバント、例えばＢＣＧ（カルメット・ゲラン桿菌）及びコリネバクテリウム・パルバム（Ｃｏｒｙｎｅｂａｃｔｅｒｉｕｍ　ｐａｒｖｕｍ）が挙げられる。かかるアジュバントもまた当該技術分野において公知である。

【０１６４】

ポリクローナル抗体は、関連抗原及びアジュバントの複数回の皮下（ｓｃ）又は腹腔内（ｉｐ）注射によって動物体内で産生させることができる。関連抗原を免疫する種において免疫原性のタンパク質とコンジュゲートすることが（特に合成ペプチドを使用する場合）有用であり得る。例えば、二官能剤又は誘導体化剤（反応基）、例えば、活性化エステル（システイン残基又はリジン残基を介したコンジュゲーション）、グルタルアルデヒド、無水コハク酸、ＳＯＣｌ２、又はＲ１Ｎ＝Ｃ＝ＮＲ（式中Ｒ及びＲ１は異なるアルキル基である）を使用して、抗原をキーホールリンペットヘモシアニン（ＫＬＨ）、血清アルブミン、ウシチログロブリン、又はダイズトリプシンインヒビターとコンジュゲートすることができる。コンジュゲートはまた、融合タンパク質として組換え細胞培養で作製することもできる。

【０１６５】

典型的には動物は、抗原、免疫原性コンジュゲート、又は誘導体に対して、適切な濃度の抗原又はコンジュゲートをアジュバントと組み合わせ、その溶液を複数の部位に注入することによって免疫される。免疫化はまた、実施例１に記載されるとおり実施することもできる（免疫化／ハイブリドーマ生成）。

【０１６６】

モノクローナル抗体は、ハイブリドーマ技術、組換え技術、及びファージディスプレイ技術の使用、又はそれらの組み合わせを含め、当該技術分野において公知の多種多様な技法を用いて調製することができる。用語「モノクローナル抗体」は、本明細書で使用されるとき、実質的に同種の又は単離された抗体の集団から得られる抗体を指し、例えば、その集団を構成する個々の抗体は、少量だけ存在し得る天然に存在する可能な突然変異を除いては同じである。モノクローナル抗体は高度に特異的で、単一の抗原部位を標的とするか、又は多特異性の改変抗体の場合には複数の抗原部位を標的とする。さらに、異なる決定基（エピトープ）を標的とする異なる抗体を含むポリクローナル抗体調製物とは対照的に、各モノクローナル抗体が抗原上の同じ決定基を標的とする。その特異性に加え、モノクローナル抗体は、他の抗体によって汚染されずに合成し得る点で有利である。修飾語句「モノクローナル」は、任意の特定の方法による必須の抗体産生として解釈されるべきではない。以下は、モノクローナル抗体を産生する代表的な方法の説明であるが、これは限定を意図するものではなく、例えば、モノクローナル哺乳動物抗体、キメラ抗体、ヒト化抗体、ヒト抗体、ドメイン抗体、ダイアボディ、ワクチボディ（ｖａｃｃｉｂｏｄｙ）、線状抗体及び多特異性抗体の産生に用いることができる。

【０１６７】
ハイブリドーマ技術を用いた特異抗体の産生及びスクリーニング方法は当該技術分野においてルーチンであり、周知されている。ハイブリドーマ方法では、マウス又は他の適切な宿主動物、例えばハムスターが、上記に記載したとおり免疫され、免疫化に用いた抗原に特異的に結合し得る抗体を産生する又はその産生能を有するリンパ球が誘発される。或いは、リンパ球はインビトロで免疫されてもよい。免疫後、リンパ球が単離され、次にポリエチレングリコールなどの好適な融合剤又は融合パートナーを使用して骨髄腫細胞株と融合され、ハイブリドーマ細胞が形成される。特定の実施形態では、選択される骨髄腫細胞は、効率的に融合し、選択された抗体産生細胞による抗体の安定した高度産生を支持し、及び融合していない親細胞に対する選択を行う選択培地に感受性を示すものである。一態様において、骨髄腫細胞株は、ソーク研究所細胞流通センター（Ｓａｌｋ　Ｉｎｓｔｉｔｕｔｅ　Ｃｅｌｌ　Ｄｉｓｔｒｉｂｕｔｉｏｎ　Ｃｅｎｔｅｒ），Ｓａｎ　Ｄｉｅｇｏ，Ｃａｌｉｆｏｒｎｉａ，ＵＳＡから入手可能なＭＯＰＣ－２１及びＭＰＣ－１１マウス腫瘍、及び米国培養細胞系統保存機関（Ａｍｅｒｉｃａｎ　Ｔｙｐｅ　Ｃｕｌｔｕｒｅ　Ｃｏｌｌｅｃｔｉｏｎ），Ｒｏｃｋｖｉｌｌｅ，Ｍａｒｙｌａｎｄ，ＵＳＡから入手可能なＳＰ－２及び誘導体、例えばＸ６３－Ａｇ８－６５３細胞に由来するものなどのマウス骨髄腫株である。ヒト骨髄腫及びマウス－ヒト異種骨髄腫細胞株もまた、ヒトモノクローナル抗体の産生について記載がある。

【０１６８】
所望の特異性、親和性、及び／又は活性の抗体を産生するハイブリドーマ細胞を同定した後、クローンを限界希釈手順によりサブクローニングし、標準方法により成長させてもよい。この目的に好適な培養培地としては、例えば、Ｄ－ＭＥＭ又はＲＰＭＩ－１６４０培地が挙げられる。加えて、ハイブリドーマ細胞は、例えば細胞をマウスに腹腔内注射することによる、動物における腹水腫瘍のようにインビボで成長させてもよい。

【０１６９】
サブクローンによって分泌されるモノクローナル抗体は、例えば、アフィニティークロマトグラフィー（例えば、プロテインＡ又はプロテインＧセファロースを使用）又はイオン交換クロマトグラフィー、アフィニティータグ、ヒドロキシルアパタイトクロマトグラフィー、ゲル電気泳動、透析などの従来の抗体精製手順によって培養培地、腹水、又は血清から好適に分離される。例示的精製方法を以下にさらに詳細に記載する。

【０１７０】
組換えＤＮＡ技法
組換えＤＮＡ技術を用いた特異抗体の産生及びスクリーニング方法は当該技術分野においてルーチンであり、周知されている。モノクローナル抗体をコードするＤＮＡは、従来の手順を用いて（例えば、マウス抗体の重鎖及び軽鎖をコードする遺伝子との特異的な結合能を有するオリゴヌクレオチドプローブを使用することにより）容易に単離及び／又は配列決定され得る。単離後、ＤＮＡを発現ベクターに入れることができ、次にはそれが、大腸菌（Ｅ．ｃｏｌｉ）細胞、サルＣＯＳ細胞、チャイニーズハムスター卵巣（ＣＨＯ）細胞、又は骨髄腫細胞などの、本来は抗体タンパク質を産生しない宿主細胞にトランスフェクトされ、組換え宿主細胞においてモノクローナル抗体が合成される。抗体のファージディスプレイ及びヒト化により生成される抗体に関して以下に記載するとおり、組換え抗体のＤＮＡ又は遺伝物質をハイブリドーマ以外の１つ又は複数の供給源から得て、抗α毒素抗体又は断片を生成することができる。

【０１７１】
抗体又はその変異体の組換え発現には、多くの場合に、抗体をコードするポリヌクレオチドを含む発現ベクターの構築が必要である。本明細書には、プロモーターに作動可能に連結された、抗体分子、抗体の重鎖又は軽鎖、抗体の重鎖又は軽鎖可変ドメイン又はその一部分、又は重鎖又は軽鎖ＣＤＲをコードするヌクレオチド配列を含む複製可能なベクターが提供される。かかるベクターは、抗体分子の定常領域をコードするヌクレオチド配列を含んでもよく、抗体の可変ドメインが、重鎖全体、軽鎖全体、又は重鎖及び軽鎖全体の

双方を発現するかかるベクターにクローニングされ得る。

【０１７２】

発現ベクターが従来技術により宿主細胞に移されると、次にトランスフェクト細胞が従来技術により培養され、抗体を産生する。従って、本明細書には、異種プロモーターに作動可能に連結された、提示される単離抗体又はその抗原結合断片又はその断片、又はその重鎖又は軽鎖、又はその一部分、又は本明細書における一本鎖抗体をコードするポリヌクレオチドを含む宿主細胞が提供される。特定の実施形態では二本鎖の抗体を発現させるため、以下に詳述するとおり、免疫グロブリン分子全体を発現する宿主細胞において、重鎖及び軽鎖の双方をコードするベクターを共発現させてもよい。

【０１７３】

組換え抗体の発現用宿主として利用可能な哺乳動物細胞株は、当該技術分野において公知であり、限定はされないが、チャイニーズハムスター卵巣（ＣＨＯ）細胞、ＨｅＬａ細胞、ベビーハムスター腎臓（ＢＨＫ）細胞、サル腎細胞（ＣＯＳ）、ヒト肝細胞癌細胞（例えば、Ｈｅｐ　Ｇ２）、ヒト上皮腎臓２９３細胞、及び数多くの他の細胞株を含め、米国培養細胞系統保存機関（Ａｍｅｒｉｃａｎ　Ｔｙｐｅ　Ｃｕｌｔｕｒｅ　Ｃｏｌｌｅｃｔｉｏｎ：ＡＴＣＣ）から利用可能な多くの不死化細胞株が挙げられる。それぞれの宿主細胞が、タンパク質及び遺伝子産物の翻訳後プロセシング及び修飾について特徴及び特定の機構を有する。適切な細胞株又は宿主系を選択することにより、発現させる抗体又はその一部分の正しい修飾及びプロセシングを確実にすることができる。この目的上、適切に一次転写物をプロセシングし、遺伝子産物をグリコシル化及びリン酸化する細胞機構を有する真核生物宿主細胞が用いられ得る。かかる哺乳動物宿主細胞としては、限定はされないが、ＣＨＯ、ＶＥＲＹ、ＢＨＫ、Ｈｅｌａ、ＣＯＳ、ＭＤＣＫ、２９３、３Ｔ３、Ｗ１３８、ＢＴ４８３、Ｈｓ５７８Ｔ、ＨＴＢ２、ＢＴ２０及びＴ４７Ｄ、ＮＳ０（いかなる機能性免疫グロブリン鎖も内因的に産生することのないマウス骨髄腫細胞株）、ＳＰ２０、ＣＲＬ７０３０及びＨｓＳ７８Ｂｓｔ細胞が挙げられる。特定の実施形態では、ヒトリンパ球を不死化することにより開発されたヒト細胞株を使用して、モノクローナル抗体を組換え産生することができる。一部の実施形態では、ヒト細胞株ＰＥＲ．Ｃ６．（Ｃｒｕｃｅｌｌ，Ｎｅｔｈｅｒｌａｎｄｓ）を使用してモノクローナル抗体を組換え産生することができる。

【０１７４】

組換え抗体の発現用宿主として用いられ得るさらなる細胞株としては、限定はされないが、昆虫細胞（例えば、Ｓｆ２１／Ｓｆ９、イラクサギンウワバ（Ｔｒｉｃｈｏｐｌｕｓｉａ　ｎｉ）Ｂｔｉ－Ｔｎ５ｂ１－４）又は酵母細胞（例えば、Ｓ．セレビシエ（Ｓ．ｃｅｒｅｖｉｓｉａｅ）、ピキア属（Ｐｉｃｈｉａ）、米国特許第７３２６６８１号明細書など）、植物細胞（米国特許出願公開第２００８００６６２００号明細書）；及びニワトリ細胞が挙げられる。

【０１７５】

特定の実施形態では、本明細書に提示される抗体は、細胞株において安定的な抗体発現で発現させる。安定発現は、組換えタンパク質の長期にわたる高収率産生に用いることができる。例えば、抗体分子を安定発現する細胞株を生成してもよい。宿主細胞を、発現制御エレメント（例えば、プロモーター、エンハンサー、転写ターミネーター、ポリアデニル化部位など）と選択可能なマーカー遺伝子とを含む適切に操作されたベクターで形質転換することができる。外来ＤＮＡの導入後、細胞を強化培地で１～２日間成長させてもよく、次に選択培地に切り換える。組換えプラスミドの選択可能なマーカーが選択に対する耐性を付与し、且つその染色体にプラスミドを安定的に組み込んだ細胞の成長及びフォーカスの形成を可能にし、次にはそのフォーカスを細胞株にクローニングして増殖することができる。安定な細胞株を高収率で産生する方法は当該技術分野において公知であり、一般に試薬が市販されている。

【０１７６】

特定の実施形態では、本明細書に提示される抗体は、細胞株において一過性の抗体発現

で発現させる。一過性トランスフェクションは、細胞に導入する核酸が当該細胞のゲノム又は染色体ＤＮＡに組み込まれない方法である。核酸は、多くの場合に、細胞の染色体外要素として、例えばエピソームとして維持される。エピソームの核酸の転写プロセスが影響を受けることはなく、エピソームの核酸によりコードされるタンパク質が産生される。

【０１７７】

安定的に又は一過性にトランスフェクトされ得る細胞株は、モノクローナル抗体の発現及び産生をもたらす当該技術分野において公知の細胞培養培地及び条件に維持される。特定の実施形態では、哺乳動物細胞培養培地は、例えばＤＭＥＭ又はＨａｍ’ｓ　Ｆ１２を含む市販の培地製剤をベースとする。一部の実施形態では、細胞培養培地は、細胞成長及び生物学的タンパク質発現の双方の増加を支えるように改良される。本明細書で使用されるとき、用語「細胞培養培地」、「培養培地」、及び「培地製剤」は、多細胞生物又は組織の外側での人工的なインビトロ環境における細胞の維持、成長、増殖、又は拡大用の栄養液を指す。細胞培養培地は、例えば、細胞の成長を促進するように配合される細胞培養成長培地、又は組換えタンパク質の産生を促進するように配合される細胞培養産生培地を含め、特定の細胞培養用途に最適化され得る。用語の栄養分、成分、及び構成成分は、本明細書では、細胞培養培地を構成する構成物を指して同義的に使用される。

【０１７８】

様々な実施形態において、細胞株はフェドバッチ法を用いて維持される。本明細書で使用されるとき、「フェドバッチ法」は、最初に基本培地とインキュベートされた後に追加的な栄養分と共にフェドバッチ細胞培養液が供給される方法を指す。例えば、フェドバッチ法は、所与の期間内での決められた補給スケジュールに従う補足培地の添加を含み得る。従って、「フェドバッチ細胞培養」は、細胞、典型的には哺乳動物細胞、及び培養培地が最初に培養槽に供給され、且つ培養中に、培養終了前の定期的な細胞及び／又は産物の回収を伴い、又は伴うことなく、さらなる培養栄養分が連続して又は不連続に増分ずつ培養物に送り込まれる細胞培養を指す。

【０１７９】

用いられる細胞培養培地及びそこに含まれる栄養分は、当該技術分野において公知である。一部の実施形態では、細胞培養培地は、基本培地及び少なくとも１つの加水分解物、例えば、大豆ベースの加水分解物、酵母ベースの加水分解物、又は２種類の加水分解物の組み合わせを含み、改良基本培地をもたらす。追加の栄養分は、ときに濃縮された基本培地などの基本培地のみを含み得るか、又は加水分解物、又は濃縮された加水分解物のみを含み得る。好適な基本培地としては、限定はされないが、ダルベッコ変法イーグル培地（ＤＭＥＭ）、ＤＭＥ／Ｆ１２、最小必須培地（ＭＥＭ）、イーグル基礎培地（ＢＭＥ）、ＲＰＭＩ　１６４０、Ｆ－１０、Ｆ－１２、α－最小必須培地（α－ＭＥＭ）、グラスゴー最小必須培地（Ｇ－ＭＥＭ）、ＰＦ　ＣＨＯ（例えば、ＣＨＯタンパク質不含培地（Ｓｉｇｍａ）又はＣＨＯ細胞用タンパク質不含のＥＸ－ＣＥＬＬ（商標）３２５　ＰＦ　ＣＨＯ無血清培地（ＳＡＦＣ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅ）を参照、、及びイスコフ変法ダルベッコ培地が挙げられる。本明細書の技法に用いられ得る基本培地の他の例としては、ＢＭＥ基本培地；ダルベッコ変法イーグル培地（ＤＭＥＭ、粉末）（Ｇｉｂｃｏ－Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ（＃３１６００）が挙げられる。特定の実施形態では、基本培地は無血清であり、すなわち培地は血清（例えば、ウシ胎仔血清（ＦＢＳ）、ウマ血清、ヤギ血清、又は当該技術分野において公知の任意の他の動物由来の血清）を含有しないか、又は動物性タンパク質不含培地又は化学限定培地であってもよい。

【０１８０】

基本培地は、様々な無機及び有機緩衝剤、１つ又は複数の界面活性剤、及び塩化ナトリウムなどの、標準的な基本培地に見られる特定の非栄養成分を除去するため改良され得る。基本細胞培地からかかる成分を除去することにより、残りの栄養成分の濃度を上昇させることができ、全体的な細胞成長及びタンパク質発現が向上し得る。加えて、省いた成分を、細胞培養条件の要件に従い改良基本細胞培地を含む細胞培養培地に加え戻してもよい。特定の実施形態では、細胞培養培地は、改良基本細胞培地と、以下の栄養分、すなわち

鉄源、組換え成長因子；緩衝剤；界面活性剤；容量オスモル濃度調節剤；エネルギー源；及び非動物性加水分解物のうちの少なくとも１つとを含有する。加えて、改良基本細胞培地は、場合により、アミノ酸、ビタミン、又はアミノ酸及びビタミンの双方の組み合わせを含有し得る。一部の実施形態では、改良基本培地は、グルタミン、例えば、Ｌ－グルタミン、及び／又はメトトレキサートをさらに含有する。

【０１８１】

一部の実施形態では、抗体産生は、当該技術分野において公知のフェドバッチ、バッチ、潅流又は連続供給バイオリアクター法を用いるバイオリアクター処理によって大量に実施される。大規模バイオリアクターは、少なくとも１０００リットルの容量、ときに約１，０００～１００，０００リットルの容量を有する。このようなバイオリアクターは、撹拌機インペラを使用して酸素及び栄養分を分配し得る。小規模バイオリアクターは、概して約１００リットル以下の容積の細胞培養を指し、約１リットル～約１００リットルの範囲であり得る。或いは、単回使用のバイオリアクター（ＳＵＢ）が、大規模培養にも、又は小規模培養にも用いられ得る。

【０１８２】

温度、ｐＨ、撹拌、曝気及び接種密度は、用いられる宿主細胞及び発現させる組換えタンパク質に応じて異なり得る。例えば、組換えタンパク質細胞培養物は、セ氏３０～４５度の温度に維持され得る。培養培地のｐＨは、培養処理の間、ｐＨが最適値にとどまるように監視されてもよく、最適値は特定の宿主細胞に対してｐＨ６．０～８．０の範囲内であり得る。かかる培養方法での撹拌には、インペラ駆動による混合が用いられ得る。インペラ（ｉｍｐｅｌｌｏｒ）の回転速度は約５０～２００ｃｍ／秒の先端速度であってよく、しかしながら培養される宿主細胞の種類に応じて、当該技術分野で公知の他のエアリフト又は他の混合／曝気システムが用いられてもよい。十分な曝気を提供することにより、ここでもやはり培養される特定の宿主細胞に応じて、培養物中約２０％～８０％空気飽和の溶存酸素濃度が維持される。或いは、バイオリアクターにより空気又は酸素を培養培地中に直接拡散させてもよい。中空糸膜曝気槽を用いる無気泡曝気システムを含めた他の酸素供給方法が存在する。

【０１８３】

ファージディスプレイ技術

一部の実施形態では、モノクローナル抗体又は抗体断片を、当該技術分野において公知の技法を用いて作成された抗体ファージライブラリから単離することができる。かかる方法では、ヒトリンパ球に由来するｍＲＮＡから調製されるヒトＶＬ及びＶＨ　ｃＤＮＡを用いて調製された組換えコンビナトリアル抗体ライブラリ、ときにｓｃＦｖファージディスプレイライブラリのスクリーニングにより、抗α毒素抗体又は断片が単離され得る。かかるライブラリの調製及びスクリーニング方法は、当該技術分野において公知である。

【０１８４】

抗体精製及び単離

組換え又はハイブリドーマ発現によって抗体分子が産生された後、その抗体分子を、免疫グロブリン分子の精製に関して当該技術分野において公知の任意の方法により、例えば、クロマトグラフィー（例えば、イオン交換、アフィニティー、特に特定の抗原プロテインＡ又はプロテインＧに対する親和性によるもの、及びサイズ処理カラムクロマトグラフィー）、遠心、溶解度の差によるか、又はタンパク質を精製する任意の他の標準的な技術により、精製することができる。さらに、本技術の抗体又はその断片は、上記に記載される、又は他に当該技術分野において精製を促進することが知られる異種ポリペプチド配列（本明細書では「タグ」と称される）と融合されてもよい。

【０１８５】

ヒト化抗体

特定の実施形態では、本技術の抗体はヒト化抗体であり、これは当該技術分野において公知の方法を用いて生成される。ヒト化抗体はキメラ抗体であってもよい。キメラ抗体は、重鎖及び／又は軽鎖の一部分が、特定の種に由来する抗体又は特定の抗体クラス若しく

はサブクラスに属する抗体の対応する配列と同一であるか、又はそれと相同である一方、その１つ又は複数の鎖の別の部分が、別の種に由来する抗体又は別の抗体クラス若しくはサブクラスに属する抗体の対応する配列と同一であるか、又はそれと相同である抗体、並びに所望の生物活性を示す限りにおいて、かかる抗体の断片である。本明細書の対象となるキメラ抗体には、非ヒト霊長類（例えば、ヒヒ、アカゲザル又はカニクイザルなどの旧世界ザル）に由来する可変ドメイン抗原結合配列とヒト定常領域配列とを含む「霊長類化」抗体が含まれる。

【０１８６】

ヒト抗体

ヒト化の代替例として、当該技術分野において公知の方法を用いてヒト抗体を生成することができる。ヒト抗体では、マウス又はラット可変領域及び／又は定常領域を有する抗体に関連する問題のいくつかが回避される。かかるマウス又はラット由来のタンパク質の存在は、抗体の急速なクリアランスをもたらし得るか、又は患者による抗体に対する免疫応答の発生をもたらし得る。マウス又はラット由来の抗体の利用を回避するため、機能的ヒト抗体遺伝子座をげっ歯類、他の哺乳類又は動物へと、そのげっ歯類、他の哺乳類又は動物が完全ヒト抗体を産生するよう導入することによって、完全ヒト抗体を生成することができる。

【０１８７】

例えば、現在、免疫化することで内因性免疫グロブリン産生なしに完全なヒト抗体レパートリーを産生することが可能なトランスジェニック動物（例えばマウス）を作ることが可能である。例えば、キメラ生殖系列変異マウスにおける抗体重鎖連結領域（ＪＨ）遺伝子のホモ接合性欠失が、内因性の抗体産生の完全な阻害をもたらすことが記載されている。ヒト生殖系列免疫グロブリン遺伝子配列をかかる生殖系列変異マウスに移すと、抗原誘発時にヒト抗体が産生され得る。実際には、ヒト重鎖遺伝子座及びκ軽鎖遺伝子座の、最大でも１０００ｋｂ以下のサイズの生殖系列構成の断片を含むように操作されているＸｅｎｏＭｏｕｓｅ（登録商標）系統のマウスの使用。ＸｅｎｏＭｏｕｓｅ（登録商標）系統は、Ａｍｇｅｎ，Ｉｎｃ．（Ｆｒｅｍｏｎｔ，Ｃａｌｉｆｏｒｎｉａ）から入手可能である。

【０１８８】

ＸｅｎｏＭｏｕｓｅ（登録商標）系統のマウスの産生及びそのようなマウスで産生される抗体は、当該技術分野において公知である。本質的に、ＸｅｎｏＭｏｕｓｅ（登録商標）系統のマウスが目的の抗原（例えばα毒素）で免疫され、過免疫マウスからリンパ細胞（Ｂ細胞など）が回収され、及び回収されたリンパ球が骨髄系細胞株と融合されることにより、上記に記載され、及び当該技術分野において公知である技術を用いて不死ハイブリドーマ細胞株が調製される。このようなハイブリドーマ細胞株をスクリーニング及び選択することにより、目的の抗原に特異的な抗体を産生したハイブリドーマ細胞株が同定される。

【０１８９】

代替的な手法のミニ遺伝子座（ｍｉｎｉｌｏｃｕｓ）手法では、Ｉｇ遺伝子座由来の断片（個々の遺伝子）を含めることによって外因性Ｉｇ遺伝子座が模倣される。従って、１つ以上のＶＨ遺伝子、１つ以上のＤＨ遺伝子、１つ以上のＪＨ遺伝子、μ定常領域、及び通常第２の定常領域（例えば、γ定常領域）が、動物への挿入用コンストラクトに形成される。

【０１９０】

マウスからのヒト抗体の生成は当該技術分野において公知であり、マイクロセル融合によって大きい染色体断片、又は染色体全体が導入されている。加えて、Ｋｉｒｉｎ社のＴｃマウスをＭｅｄａｒｅｘ社のミニ遺伝子座（Ｈｕｍａｂ）マウスと異種交配して得られるＫＭ（商標）マウスが生成されている。このようなマウスは、Ｋｉｒｉｎ社マウスのヒトＩｇＨトランスクロモソームと、Ｇｅｎｐｈａｒｍ社マウスのκ鎖導入遺伝子とを有する。

【０１９１】
ヒト抗体はまた、インビトロ方法により得ることもできる。好適な例としては、限定はされないが、ファージディスプレイ（ＭｅｄＩｍｍｕｎｅ（旧ＣＡＴ）、Ｍｏｒｐｈｏｓｙｓ、Ｄｙａｘ、Ｂｉｏｓｉｔｅ／Ｍｅｄａｒｅｘ、Ｘｏｍａ、Ｓｙｍｐｈｏｇｅｎ、Ａｌｅｘｉｏｎ（旧Ｐｒｏｌｉｆｅｒｏｎ）、Ａｆｆｉｍｅｄ）、リボソームディスプレイ（ＭｅｄＩｍｍｕｎｅ（旧ＣＡＴ））、酵母ディスプレイなどが挙げられる。ファージディスプレイ技術を用いると、免疫されていないドナー由来の免疫グロブリン可変（Ｖ）ドメイン遺伝子レパートリーからヒト抗体及び抗体断片をインビトロで産生することができる。この技術によれば、抗体Ｖドメイン遺伝子がＭ１３又はｆｄなどの繊維状バクテリオファージの主要な又はマイナーなコートタンパク質遺伝子のいずれかにインフレームでクローニングされ、ファージ粒子の表面上に機能的抗体断片として提示される。糸状粒子はファージゲノムの一本鎖ＤＮＡコピーを含むため、抗体の機能特性に基づき選択すると、それらの特性を示す抗体をコードする遺伝子を選択することになる。従って、ファージはＢ細胞のいくらかの特性を模倣する。ファージディスプレイは様々なフォーマットで実施することができる。いくつかのＶ遺伝子セグメント供給源をファージディスプレイに用いることができる。多様な一連の抗オキサゾロン抗体が、免疫マウスの脾臓に由来するＶ遺伝子の小さいランダムコンビナトリアルライブラリーから単離されている。本質的に当該技術分野において公知の技法に従い非免疫ヒトドナー由来のＶ遺伝子のレパートリーを構築することができ、及び多様な一連の抗原（自己抗原を含む）に対する抗体を単離することができる。上記に考察したとおり、ヒト抗体はまた、インビトロで活性化したＢ細胞によって生成されてもよい。

【０１９２】
免疫グロブリン遺伝子は、Ｖ、Ｄ及びＪ遺伝子セグメント間の組換え、アイソタイプスイッチング、及び可変領域における超突然変異を含め、免疫応答の成熟中に様々な修飾を受ける。組換え及び体細胞超突然変異は抗体多様性及び親和性成熟が生じる基礎であるが、しかしながらそれらによって配列のライアビリティ（ｌｉａｂｉｌｉｔｙ）もまた生じ得ることで、かかる免疫グロブリンの治療剤としての商業的生産が困難となり、又は抗体の免疫原性リスクが増加し得る。一般に、ＣＤＲ領域における突然変異は親和性及び機能の向上に寄与するものと思われる一方、フレームワーク領域における突然変異は免疫原性リスクを増加させ得る。このリスクは、抗体の活性が悪影響を受けないことを確実にしながらフレームワーク突然変異を生殖系列に復帰させることによって低減できる。多様化プロセスにより何らかの構造的ライアビリティもまた生じることがあり、又はそのような構造的ライアビリティが、重鎖及び軽鎖可変ドメインに寄与する生殖系列配列内に存在することもある。供給源にかかわらず、不安定性、凝集、産物の不均一性、又は免疫原性の増加をもたらし得る潜在的な構造的ライアビリティは除去することが望ましい場合もある。望ましくないライアビリティの例としては、不対のシステイン（これはジスルフィド結合のスクランブリング、又は不定のスルフヒドリル付加物の形成を引き起こし得る）、Ｎ－結合型グリコシル化部位（構造及び活性の不均一性をもたらす）、並びにアミド分解（例えば、ＮＧ、ＮＳ）、異性化（ＤＧ）、酸化（メチオニンの露出）、及び加水分解（ＤＰ）部位が挙げられる。

【０１９３】
従って、実施例１１の表１～８に開示される抗体の免疫原性リスクを低減し、且つ薬学的特性を向上させるため、フレームワーク配列を生殖系列に復帰させ、ＣＤＲを生殖系列に復帰させ、及び／又は構造的ライアビリティを除去することが望ましいともいえる。従って、一部の実施形態では、特定の抗体がアミノ酸レベルでそのそれぞれの生殖系列配列と異なる場合に、その抗体配列を生殖系列配列に逆変異させることができる。かかる修正的な変異は、標準的な分子生物学的技術を用いて、１つ、２つ、３つ以上の位置、又はそれらの変異位置のいずれかの組み合わせに生じさせることができる。

【０１９４】
さらなる手法としては、ＶｅｌｏｃＩｍｍｕｎｅ（登録商標）技術（Ｒｅｇｅｎｅｒｏ

ｎ　Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌｓ）が挙げられる。Ｖｅｌｏｃｉｍｍｕｎｅ（登録商標）技術は、治療対象となる標的に対する完全ヒトモノクローナル抗体の生成に用いることができるものであり、マウスが抗原刺激に応答してヒト可変領域とマウス定常領域とを含む抗体を産生するように内因性マウス定常領域遺伝子座に作動可能に連結されたヒト重鎖及び軽鎖可変領域を含むゲノムを有するトランスジェニックマウスの生成が関わる。抗体の重鎖及び軽鎖の可変領域をコードするＤＮＡが単離され、ヒト重鎖及び軽鎖定常領域をコードするＤＮＡに作動可能に連結される。次にＤＮＡを、完全ヒト抗体の発現能を有する細胞で発現させる。例えば、米国特許第６，５９６，５４１号明細書を参照のこと。

【０１９５】

抗体断片

特定の実施形態では、本抗体は、抗体断片又はそれらの断片を含む抗体である。抗体断片は、完全長抗体の、概してその抗原結合領域又は可変領域である一部分を含む。抗体断片の例には、Ｆａｂ、Ｆａｂ’、Ｆ（ａｂ’）２、Ｆｄ及びＦｖ断片が含まれる。ダイアボディ；線状抗体、一本鎖抗体分子；及び多特異性抗体は、これらの抗体断片から形成される抗体である。

【０１９６】

伝統的にこれらの断片は、当該技術分野において公知の技法を用いたインタクトな抗体のタンパク質消化によって得られた。しかしながら、現在これらの断片は、組換え宿主細胞により直接産生することができる。Ｆａｂ、Ｆｖ及びｓｃＦｖ抗体断片は、全て大腸菌（Ｅ．ｃｏｌｉ）で発現してそこから分泌され得るため、従ってこのような断片を容易に大量に産生することが可能である。一部の実施形態では、抗体断片は、上記で考察される抗体ファージライブラリから単離することができる。或いは、Ｆａｂ’－ＳＨ断片を大腸菌（Ｅ．ｃｏｌｉ）から直接回収し、化学的にカップリングすることにより、Ｆ（ａｂ’）２断片を形成することもできる。別の手法によれば、Ｆ（ａｂ’）２断片を組換え宿主細胞培養物から直接単離することができる。抗体断片を産生する他の技術が公知である。一部の実施形態では、選択される抗体は単鎖Ｆｖ断片（ｓｃＦｖ）である。特定の実施形態では、抗体はＦａｂ断片でない。Ｆｖ及びｓｃＦｖは、定常領域を欠いたインタクトな組み合わせ部位を有する唯一の種である；従ってこれらは、生体内で使用する間の非特異的結合を減少させるのに好適である。ｓｃＦｖのアミノ末端又はカルボキシ末端のいずれかにエフェクタータンパク質の融合が生じるようにｓｃＦｖ融合タンパク質を構築してもよい。

【０１９７】

特定の実施形態では、本抗体は、ドメイン抗体、例えばヒト抗体の重鎖可変（ＶＨ）領域又は軽鎖可変（ＶＬ）領域に対応する抗体の小さい機能的結合単位を含む抗体である。ドメイン抗体の例としては、限定はされないが、治療標的に特異的な、Ｄｏｍａｎｔｉｓから入手可能なものが挙げられる。ドメイン抗体の市販のライブラリを使用して、抗α毒素ドメイン抗体を同定することができる。特定の実施形態では、抗α毒素抗体及び断片は、α毒素の機能的結合単位及びＦｃγ受容体の機能的結合単位を含む。

【０１９８】

本明細書の特定の実施形態では、本抗体は線状抗体である。線状抗体は、一対の抗原結合領域を形成する一対のタンデム型Ｆｄセグメント（ＶＨ－ＣＨ１－ＶＨ－ＣＨ１）を含む。線状抗体は二重特異性又は単一特異性であってもよい。

【０１９９】

特定のアミノ酸配列修飾

上述のヒト抗体、ヒト化抗体及び／又はキメラ抗体に加え、本技術は、以下、すなわち可変軽鎖（ＶＬ）ドメイン及び／又は可変重鎖（ＶＨ）ドメイン及び／又はＦｃ領域におけるアミノ酸残基及び／又はポリペプチド置換、付加及び／又は欠失、及び翻訳後修飾のうちの１つ以上を含む抗α毒素抗体又は断片のさらなる修飾、その変異体及びその断片も包含する。これらの修飾には、抗体が部分に共有結合的に結合されている抗体コンジュゲートが含まれる。抗体との結合に好適な部分には、限定はされないが、タンパク質、ペプ

チド、薬物、標識、及び細胞毒が含まれる。抗体にこのような変化を生じさせることにより、抗体の特性（例えば、生化学的、結合的及び／又は機能的）を、黄色ブドウ球菌（Ｓ．ａｕｒｅｕｓ）関連性及び／又はα毒素媒介性疾患の治療及び／又は診断に適切となるように改変又は微調整し得る。コンジュゲートを形成し、アミノ酸及び／又はポリペプチド変化及び翻訳後修飾を生じさせる方法は、当該技術分野において公知であり、その一部は以下に詳述する。欠失、挿入、及び置換のいかなる組み合わせを生じさせて最終的なコンストラクトに達してもよく、但しその最終的なコンストラクトは所望の特性を有するものとする。

【０２００】

抗体のアミノ酸が変化すると、本明細書に記載される抗体配列又は親抗体配列との同一性が１００％未満の配列となる。これに関連して特定の実施形態では、抗体は、本明細書に記載されるとおりの抗α毒素抗体又は断片の重鎖又は軽鎖可変ドメインのアミノ酸配列と約２５％～約９５％の配列同一性を有し得る。従って、一部の実施形態では、修飾された抗体は、本明細書に記載されるとおりの抗α毒素抗体又は断片の重鎖又は軽鎖可変ドメイン全体のアミノ酸配列と少なくとも２５％、３５％、４５％、５５％、６５％、７５％、８０％、８５％、９０％、又は９５％のアミノ酸配列同一性又は類似性を有するアミノ酸配列を有し得る。特定の実施形態では、改変された抗体は、本明細書に記載されるとおりの抗α毒素抗体又は断片の重鎖又は軽鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、又はＣＤＲ３のアミノ酸配列と少なくとも２５％、３５％、４５％、５５％、６５％、７５％、８０％、８５％、９０％、又は９５％のアミノ酸配列同一性又は類似性を有するアミノ酸配列を有する。改変された抗体は、ときに本明細書に記載されるとおりの抗α毒素抗体又は断片の重鎖又は軽鎖ＦＲ１、ＦＲ２、ＦＲ３又はＦＲ４のアミノ酸配列と少なくとも２５％、３５％、４５％、５５％、６５％、７５％、８０％、８５％、９０％、又は９５％のアミノ酸配列同一性又は類似性を有するアミノ酸配列を有し得る。

【０２０１】

特定の実施形態では、改変された抗体は、抗体の可変領域の１つ以上に導入される１つ以上のアミノ酸改変（例えば、置換、欠失及び／又は付加）により生成される。様々な実施形態において、アミノ酸改変はフレームワーク領域に導入される。フレームワーク領域残基の１つ以上の改変により、抗原に対する抗体の結合親和性が向上し得る。これは、特に、フレームワーク領域がＣＤＲ領域と異なる種に由来し得る場合のヒト化抗体にそのような変化を生じさせる場合に該当し得る。修飾するフレームワーク領域残基の例には、抗原と非共有結合的に直接結合する残基、ＣＤＲの立体構造と相互作用する／それをもたらす残基、及び／又はＶＬ－ＶＨ接合部に関与する残基が含まれる。一部の実施形態では、約１～約５個のフレームワーク残基が改変され得る。ときにこれは、超可変領域残基が一つも改変されていない場合であっても、前臨床試験での使用に好適な抗体突然変異体を生じさせるのに十分であり得る。しかしながら、通常、改変された抗体は、さらなる１つ又は複数の超可変領域改変を含み得る。特定の実施形態において、特に、第２の哺乳動物種由来の抗原に対する抗α毒素抗体又は断片の出発時の結合親和性が、ランダムに産生された抗体を容易にスクリーニングすることができるようなものである場合に、超可変領域残基はランダムに変化させてもよい。

【０２０２】

改変された抗体を生成する一つの有用な手順は、「アラニンスキャニング突然変異誘発」と呼ばれる。この方法では、１つ又は複数の超可変領域残基の１つ以上が１つ又は複数のアラニン残基又はポリアラニン残基によって置換され、それによりアミノ酸のα毒素との相互作用が改変される。次に、置換に対して機能感受性を示す１つ又は複数の超可変領域残基が、置換部位に、又はそこに対して追加的な若しくは他の突然変異を導入することにより精緻化される。従って、アミノ酸配列変異を導入する部位は予め決定されるが、突然変異それ自体の性質が予め決定されている必要はない。このように産生されるＡｌａ突然変異体は、本明細書に記載されるとおりその生物活性についてスクリーニングされる。

【０２０３】

特定の実施形態では、置換変異体には、親抗体（例えば、ヒト化抗体又はヒト抗体）の１つ以上の超可変領域残基の置換が関わる。概して、さらなる展開用に選択される得られる１つ又は複数の変異体は、それが生成された元の親抗体と比べて向上した生物学的特性を有し得る。かかる置換変異体を生成する好都合な方法には、ファージを使用した親和性成熟が関わる。簡潔に言えば、いくつかの超可変領域部位（例えば、６～７つの部位）を変異させて、各部位にあらゆる可能なアミノ酸置換を生成する。このように生成された抗体突然変異体が、一価の形式で繊維状ファージ粒子から、各粒子内にパッケージされたＭ１３の遺伝子ＩＩＩ産物との融合体として提示される。次にファージによって提示された突然変異体は、本明細書に開示されるとおりその生物活性（例えば結合親和性）についてスクリーニングされる。

【０２０４】

抗体配列における突然変異としては、置換、内部欠失を含む欠失、融合タンパク質を生じる付加を含む付加、又はアミノ酸配列の内部の及び／又はそれに離接するアミノ酸残基の保存的置換であって、但しその変化が機能的に等価な抗α毒素抗体又は断片をもたらす点で「サイレントな」変化をもたらす保存的置換を挙げることができる。保存的アミノ酸置換は、関与する残基の極性、電荷、溶解度、疎水性、親水性、及び／又は両親媒性の性質の類似性に基づき生じさせることができる。例えば、非極性（疎水性）アミノ酸としては、アラニン、ロイシン、イソロイシン、バリン、プロリン、フェニルアラニン、トリプトファン、及びメチオニンが挙げられ；極性中性アミノ酸としては、グリシン、セリン、スレオニン、システイン、チロシン、アスパラギン、及びグルタミンが挙げられ；正電荷（塩基性）アミノ酸としては、アルギニン、リジン、及びヒスチジンが挙げられ；及び負電荷（酸性）アミノ酸としては、アスパラギン酸及びグルタミン酸が挙げられる。加えて、グリシン及びプロリンは、鎖配向に影響を及ぼし得る残基である。非保存的置換は、これらのクラスのうちの一つのメンバーの、別のクラスのメンバーとの交換を伴い得る。さらに、必要であれば、非古典的アミノ酸又は化学的アミノ酸類似体を抗体配列に置換又は付加として導入することができる。非古典的アミノ酸としては、限定はされないが、一般的アミノ酸のＤ－異性体、α－アミノイソ酪酸、４－アミノ酪酸、Ａｂｕ、２－アミノ酪酸、γ－Ａｂｕ、ε－Ａｈｘ、６－アミノヘキサン酸、Ａｉｂ、２－アミノイソ酪酸、３－アミノプロピオン酸、オルニチン、ノルロイシン、ノルバリン、ヒドロキシプロリン、サルコシン、シトルリン、システイン酸、ｔ－ブチルグリシン、ｔ－ブチルアラニン、フェニルグリシン、シクロヘキシルアラニン、β－アラニン、フルオロアミノ酸、デザイナーアミノ酸、例えばβ－メチルアミノ酸、Ｃ－α－メチルアミノ酸、Ｎ－α－メチルアミノ酸、及び一般にアミノ酸類似体が挙げられる。

【０２０５】

特定の実施形態では、抗α毒素抗体又は断片の適切な立体構造の維持に関与しない全てのシステイン残基を概してセリンと置換してもよく、それにより分子の酸化安定性が向上し、異常な架橋が防止され得る。逆に、１つ又は複数のシステイン結合が抗体に加えられてもよく、それによりその安定性が（特に抗体がＦｖ断片などの抗体断片である場合）向上し得る。

【０２０６】

一部の実施形態では、抗体は、融合タンパク質；すなわち、異種タンパク質、ポリペプチド又はペプチドと融合した抗体、又はその断片を産生するように修飾することができる。様々な実施形態において、抗体の一部分と融合するタンパク質は、抗体指向酵素プロドラッグ療法（ＡＤＥＰＴ）の酵素成分である。抗体との融合タンパク質として操作することのできる他のタンパク質又はポリペプチドの例としては、限定はされないが、毒素、例えば、リシン、アブリン、リボヌクレアーゼ、ＤＮａｓｅ　Ｉ、ブドウ球菌性エンテロトキシンＡ、アメリカヤマゴボウ抗ウイルスタンパク質、ゲロニン、ジフテリア毒素、緑膿菌外毒素、及び緑膿菌内毒素が挙げられる。用いることができる酵素的に活性な毒素及びその断片としては、ジフテリアＡ鎖、ジフテリア毒素の非結合活性断片、エキソトキシンＡ鎖（シュードモナス・エルギノーサ（Ｐｓｅｕｄｏｍｏｎａｓ　ａｅｒｕｇｉｎｏｓａ

）由来）、リシンＡ鎖、アブリンＡ鎖、モデシンＡ鎖、αサルシン、シナアブラギリ（Ａｌｅｕｒｉｔｅｓ ｆｏｒｄｉｉ）タンパク質、ジアンチン（ｄｉａｎｔｈｉｎ）タンパク質、アメリカヤマゴボウ（Ｐｈｙｔｏｌａｃｃａ ａｍｅｒｉｃａｎａ）タンパク質（ＰＡＰＩ、ＰＡＰＩＩ、及びＰＡＰ－Ｓ）、ニガウリ（ｍｏｍｏｒｄｉｃａ ｃｈａｒａｎｔｉａ）インヒビター、クルシン、クロチン、サボンソウ（ｓａｐｏｎａｒｉａ ｏｆｆｉｃｉｎａｌｉｓ）インヒビター、ゲロニン、マイトジェリン（ｍｉｔｏｇｅｌｌｉｎ）、レストリクトシン、フェノマイシン、エノマイシン及びトリコテセン（ｔｒｉｃｈｏｔｈｅｃｅｎｅ）が挙げられる。

【０２０７】

さらなる融合タンパク質が、公知の遺伝子シャッフリング、モチーフシャッフリング、エクソンシャッフリング、及び／又はコドンシャッフリング（「ＤＮＡシャフリング」と総称される）技術によって生成されてもよい。ＤＮＡシャフリングを用いて抗体又はその断片の特性を改変し得る（例えば、より高い親和性及びより低い解離速度の抗体又はその断片）。抗体は、さらに、当該技術分野において公知のとおりの結合ドメイン免疫グロブリン融合タンパク質であってもよい。

【０２０８】

変異Ｆｃ領域

本発明はまた、修飾ＩｇＧ定常ドメインを有する本発明の結合メンバー、特に本発明の抗体も含む。長い血清中半減期及び様々なエフェクター機能を媒介する能力などの機能的特性を有するヒトＩｇＧクラスの抗体が、本発明の特定の実施形態で使用される（Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ：Ｐｒｉｎｃｉｐｌｅｓ ａｎｄ Ａｐｐｌｉｃａｔｉｏｎｓ，Ｗｉｌｅｙ－Ｌｉｓｓ，Ｉｎｃ．，Ｃｈａｐｔｅｒ １（１９９５））。ヒトＩｇＧクラス抗体は、さらに以下の４つのサブクラスに分類される：ＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３及びＩｇＧ４。ＩｇＧクラス抗体のエフェクター機能としてのＡＤＣＣ及びＣＤＣについて、これまで数多くの研究が行われており、ヒトＩｇＧクラスの抗体のなかでもＩｇＧ１サブクラスは、ヒトにおいて最大のＡＤＣＣ活性及びＣＤＣ活性を有することが報告されている（Ｃｈｅｍｉｃａｌ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ，６５，８８（１９９７））。

【０２０９】

「抗体依存性細胞媒介性細胞傷害」及び「ＡＤＣＣ」は、非特異的細胞傷害性細胞（例えば、ナチュラルキラー（ＮＫ）細胞、好中球、及びマクロファージ）が標的細胞上の結合抗体を認識し、続いて標的細胞の溶解を引き起こす細胞媒介性反応を指す。一実施形態において、かかる細胞はヒト細胞である。いかなる特定の作用機序にも限定されることは望まないが、ＡＤＣＣを媒介するこのような細胞傷害性細胞は、概してＦｃ受容体（ＦｃＲ）を発現する。ＡＤＣＣを媒介する主要な細胞であるＮＫ細胞はＦｃγＲＩＩＩを発現する一方、単球はＦｃγＲＩ、ＦｃγＲＩＩ、ＦｃγＲＩＩＩ及び／又はＦｃγＲＩＶを発現する。造血細胞上でのＦｃＲ発現については、Ｒａｖｅｔｃｈ ａｎｄ Ｋｉｎｅｔ，Ａｎｎｕ．Ｒｅｖ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．，９：４５７－９２（１９９１）に要約されている。分子のＡＤＣＣ活性の評価には、米国特許第５，５００，３６２号明細書又は同第５，８２１，３３７号明細書に記載されるようなインビトロＡＤＣＣアッセイが実施されてもよい。かかるアッセイに有用なエフェクター細胞には、末梢血単核球（ＰＢＭＣ）及びナチュラルキラー（ＮＫ）細胞が含まれる。或いは、又は加えて、目的の分子のＡＤＣＣ活性をインビボで、例えば、Ｃｌｙｎｅｓ ｅｔ ａｌ．，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．（ＵＳＡ），９５：６５２－６５６（１９９８）に開示されるものなどの動物モデルにおいて評価してもよい。

【０２１０】

「補体依存性細胞傷害性」又は「ＣＤＣ」は、分子が補体活性化を惹起して補体の存在下で標的を溶解する能力を指す。補体活性化経路は、補体系の第１の成分（Ｃ１ｑ）が、同種抗原と複合体を形成する分子（例えば抗体）に結合することにより惹起される。補体活性化の評価には、例えばＧａｚｚａｎｏ－Ｓａｎｔａｒｏ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｉｍｍ

ｕｎｏｌ．Ｍｅｔｈｏｄｓ，２０２：１６３（１９９６）に記載されるとおりの、ＣＤＣアッセイが実施されてもよい。

【０２１１】

ヒトＩｇＧ１サブクラス抗体のＡＤＣＣ活性及びＣＤＣ活性の発現には、概して、抗体のＦｃ領域が、キラー細胞、ナチュラルキラー細胞又は活性化マクロファージなどのエフェクター細胞の表面上に存在する抗体に対する受容体（以下、「ＦｃγＲ」と称する）に結合することが関わる。様々な補体成分が結合し得る。結合に関して、抗体のヒンジ領域のいくつかのアミノ酸残基及びＣ領域の第２ドメイン（以下、「Ｃγ２ドメイン」と称する）が重要であること（Ｅｕｒ．Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．，２３，１０９８（１９９３），Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ，８６，３１９（１９９５）、Ｃｈｅｍｉｃａｌ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ，６５，８８（１９９７））、及びＣγ２ドメインにおける糖鎖（Ｃｈｅｍｉｃａｌ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ，６５，８８（１９９７））もまた重要であることが示唆されている。

【０２１２】

「エフェクター細胞」は、１つ以上のＦｃＲを発現し、且つエフェクター機能を果たす白血球である。この細胞は、少なくともＦｃγＲＩ、ＦＣγＲＩＩ、ＦｃγＲＩＩＩ及び／又はＦｃγＲＩＶを発現し、ＡＤＣＣエフェクター機能を実行する。ＡＤＣＣを媒介するヒト白血球の例としては、末梢血単核球（ＰＢＭＣ）、ナチュラルキラー（ＮＫ）細胞、単球、細胞傷害性Ｔ細胞及び好中球が挙げられる。用語「Ｆｃ受容体」又は「ＦｃＲ」は、抗体のＦｃ領域に結合する受容体を記載するために用いられる。一実施形態において、ＦｃＲは天然配列ヒトＦｃＲである。さらに、特定の実施形態では、ＦｃＲはＩｇＧ抗体と結合するもの（γ受容体）であり、対立遺伝子変異体及び選択的スプライシングを受けた形態のこうした受容体を含め、ＦｃγＲＩ、ＦｃγＲＩＩ、ＦｃγＲＩＩＩ、及びＦｃγＲＩＶサブクラスの受容体が含まれる。ＦｃγＲＩＩ受容体には、ＦｃγＲＩＩＡ（「活性化受容体」）及びＦｃγＲＩＩＢ（「阻害受容体」）が含まれ、これらは同様のアミノ酸配列を有し、主な違いはその細胞質ドメインである。活性化受容体ＦｃγＲＩＩＡは、その細胞質ドメインに免疫受容体チロシンベース活性化モチーフ（ＩＴＡＭ）を含む。阻害受容体ＦｃγＲＩＩＢは、その細胞質ドメインに免疫受容体チロシンベース阻害モチーフ（ＩＴＩＭ）を含む（Ｄａｅｒｏｎ，Ａｎｎｕ．Ｒｅｖ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．，１５：２０３－２３４（１９９７）を参照のこと）。ＦｃＲについては、Ｒａｖｅｔｃｈ ａｎｄ Ｋｉｎｅｔ，Ａｎｎｕ．Ｒｅｖ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．，９：４５７－９２（１９９１）；Ｃａｐｅｌ ｅｔ ａｌ．，Ｉｍｍｕｎｏｍｅｔｈｏｄｓ，４：２５－３４（１９９４）；及びｄｅ Ｈａａｓ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｌａｂ．Ｃｌｉｎ．Ｍｅｄ．，１２６：３３０－４１（１９９５）でレビューされている。今後同定されるものを含め、他のＦｃＲが、本明細書における用語「ＦｃＲ」に包含される。この用語にはまた新生児受容体ＦｃＲｎも含まれ、これは、母性ＩｇＧの胎児への移行に関与する（Ｇｕｙｅｒ ｅｔ ａｌ．，Ｉｍｍｕｎｏｌ．，１１７：５８７（１９７６）及びＫｉｍ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．，２４：２４９（１９９４））。

【０２１３】

特定の実施形態では、抗α毒素抗体又は断片は、抗体の機能的及び／又は薬物動態学的特性を変化させるためＦｃ領域に１つ以上の改変が加えられている改変Ｆｃ領域（本明細書では「変異Ｆｃ領域」とも称される）を含む。かかる改変により、ＩｇＧに対するＣｌｑ結合及び補体依存性細胞傷害性（ＣＤＣ）の、又はＦｃγＲ結合の低下又は増加がもたらされ得る。本技術は、変化を加えて所望の効果を提供するようエフェクター機能が改変されている変異Ｆｃ領域を有する本明細書に記載される抗体を包含する。従って、一部の実施形態では、抗α毒素抗体又は断片は、変異Ｆｃ領域（すなわち、以下で考察するとおり改変されているＦｃ領域）を含む。変異Ｆｃ領域を含む本明細書の抗α毒素抗体及び断片はまた、ここでは「Ｆｃ変異抗体」とも称される。本明細書で使用されるとき、天然とは非修飾親配列を指し、天然のＦｃ領域を含む抗体は、本明細書では「天然Ｆｃ抗体」と称される。一部の実施形態では、変異Ｆｃ領域は、天然のＦｃ領域と比較して同程度のエ

フェクター機能の誘導を示す。特定の実施形態では、変異Ｆｃ領域は、天然Ｆｃと比較してより高いエフェクター機能の誘導を示す。特定の実施形態では、変異Ｆｃ領域は、天然Ｆｃと比較してより低いエフェクター機能の誘導を示す。変異Ｆｃ領域のいくつかの具体的な実施形態を本明細書に詳述する。エフェクター機能の計測方法は、当該技術分野において公知である。

【０２１４】

抗体のエフェクター機能は、限定はされないが、アミノ酸置換、アミノ酸付加、アミノ酸欠失及びＦｃアミノ酸に対する翻訳後修飾（例えばグリコシル化）の変化を含め、Ｆｃ領域を変化させることによって修飾することができる。以下に記載される方法を用いて、本明細書に記載されるとおりの単離抗体又は抗原結合断片のエフェクター機能を改変し、特定の黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ａｕｒｅｕｓ）関連疾患又は病態の予防又は治療に有利な特定の特性を有する抗体又は抗原結合断片を生じさせてもよい。

【０２１５】

一部の実施形態では、Ｆｃリガンド（例えば、Ｆｃ受容体、Ｃ１ｑ）に対し、天然Ｆｃ抗体と比べて改変された結合特性を有するＦｃ変異抗体が調製される。結合特性の例としては、限定はされないが、結合特異性、平衡解離定数（K_d）、解離速度及び会合速度（それぞれｋｏｆｆ及びｋｏｎ）、結合親和性及び／又はアビディティが挙げられる。当該技術分野においては、平衡解離定数（K_d）はｋｏｆｆ／ｋｏｎとして定義されることが公知である。特定の態様では、高いK_dを有する抗体に対して低いK_dのＦｃ変異領域を含む抗体がより望ましいこともある。しかしながら、ある場合にはｋｏｎ又はｋｏｆｆの値のほうが、K_dの値より関連性が高いこともある。所与の抗体適用についてどの動態学的パラメータがより重要であるかは、決定することができる。

【０２１６】

一部の実施形態では、Ｆｃ変異抗体は、限定はされないが、ＦｃＲｎ、アイソフォームＦｃγＲＩＡ、ＦｃγＲＩＢ、及びＦｃγＲＩＣを含むＦｃγＲＩ（ＣＤ６４）；ＦｃγＲＩＩ（ＣＤ３２、アイソフォームＦｃγＲＩＩＡ、ＦｃγＲＩＩＢ、及びＦｃγＲＩＩＣを含む）；及びＦｃγＲＩＩＩ（ＣＤ１６、アイソフォームＦｃγＲＩＩＩＡ及びＦｃγＲＩＩＩＢを含む）を含む１つ以上のＦｃ受容体に対し、天然Ｆｃ抗体と比較したとき改変された結合親和性を示す。

【０２１７】

特定の実施形態では、Ｆｃ変異抗体は、１つ以上のＦｃリガンドとの結合性が天然Ｆｃ抗体と比べて向上している。特定の実施形態では、Ｆｃ変異抗体は、天然Ｆｃ抗体と比べて少なくとも２倍、又は少なくとも３倍、又は少なくとも５倍、又は少なくとも７倍、又は少なくとも１０倍、又は少なくとも２０倍、又は少なくとも３０倍、又は少なくとも４０倍、又は少なくとも５０倍、又は少なくとも６０倍、又は少なくとも７０倍、又は少なくとも８０倍、又は少なくとも９０倍、又は少なくとも１００倍、又は少なくとも２００倍、又は２倍～１０倍、又は５倍～５０倍、又は２５倍～１００倍、又は７５倍～２００倍、又は１００～２００倍高い又は低いＦｃリガンドに対する親和性の増加又は低下を示す。様々な実施形態において、Ｆｃ変異抗体は、天然Ｆｃ抗体と比べて少なくとも９０％、少なくとも８０％、少なくとも７０％、少なくとも６０％、少なくとも５０％、少なくとも４０％、少なくとも３０％、少なくとも２０％、少なくとも１０％、又は少なくとも５％高い又は低いＦｃリガンドに対する親和性を示す。特定の実施形態では、Ｆｃ変異抗体は、Ｆｃリガンドに対する親和性が増加している。Ｆｃ変異抗体は、ときに、Ｆｃリガンドに対する親和性が低下していてもよい。

【０２１８】

一部の実施形態では、Ｆｃ変異抗体は、Ｆｃ受容体ＦｃγＲＩＩＩＡとの結合が増強されている。一部の実施形態では、Ｆｃ変異抗体は、Ｆｃ受容体ＦｃγＲＩＩＢとの結合が増強されている。特定の実施形態では、Ｆｃ変異抗体は、Ｆｃ受容体ＦｃγＲＩＩＩＡ及びＦｃγＲＩＩＢの双方との結合が増強されている。特定の実施形態では、ＦｃγＲＩＩ

ＩＡとの結合が増強されたＦｃ変異抗体は、天然Ｆｃ抗体と比較したとき、ＦｃγＲＩＩＢ受容体との結合が同時には増加しない。特定の実施形態では、Ｆｃ変異抗体は、Ｆｃ受容体ＦｃγＲＩＩＩＡとの結合が低減されている。Ｆｃ変異抗体は、ときに、Ｆｃ受容体ＦｃγＲＩＩＢとの結合が低減されていてもよい。様々な実施形態において、ＦｃγＲＩＩＡ及び／又はＦｃγＲＩＩＢに対して改変された親和性を示すＦｃ変異抗体は、Ｆｃ受容体ＦｃＲｎとの結合が増強されている。一部の実施形態では、ＦｃγＲＩＩＩＡ及び／又はＦｃγＲＩＩＢに対して改変された親和性を示すＦｃ変異抗体は、天然Ｆｃ抗体と比べてＣ１ｑとの結合が改変されている。

【０２１９】

特定の実施形態では、Ｆｃ変異抗体は、天然Ｆｃ抗体と比べて少なくとも２倍、又は少なくとも３倍、又は少なくとも５倍、又は少なくとも７倍、又は少なくとも１０倍、又は少なくとも２０倍、又は少なくとも３０倍、又は少なくとも４０倍、又は少なくとも５０倍、又は少なくとも６０倍、又は少なくとも７０倍、又は少なくとも８０倍、又は少なくとも９０倍、又は少なくとも１００倍、又は少なくとも２００倍、又は２倍～１０倍、又は５倍～５０倍、又は２５倍～１００倍、又は７５倍～２００倍、又は１００～２００倍高い又は低いＦｃγＲＩＩＩＡ受容体に対する親和性を示す。様々な実施形態において、Ｆｃ変異抗体は、天然Ｆｃ抗体と比べて少なくとも９０％、少なくとも８０％、少なくとも７０％、少なくとも６０％、少なくとも５０％、少なくとも４０％、少なくとも３０％、少なくとも２０％、少なくとも１０％、又は少なくとも５％高い又は低いＦｃγＲＩＩＡに対する親和性を示す。

【０２２０】

特定の実施形態では、Ｆｃ変異抗体は、天然Ｆｃ抗体と比べて少なくとも２倍、又は少なくとも３倍、又は少なくとも５倍、又は少なくとも７倍、又は少なくとも１０倍、又は少なくとも２０倍、又は少なくとも３０倍、又は少なくとも４０倍、又は少なくとも５０倍、又は少なくとも６０倍、又は少なくとも７０倍、又は少なくとも８０倍、又は少なくとも９０倍、又は少なくとも１００倍、又は少なくとも２００倍、又は２倍～１０倍、又は５倍～５０倍、又は２５倍～１００倍、又は７５倍～２００倍、又は１００～２００倍高い又は低いＦｃγＲＩＩＢ受容体に対する親和性を示す。特定の実施形態では、Ｆｃ変異抗体は、天然Ｆｃ抗体と比べて少なくとも９０％、少なくとも８０％、少なくとも７０％、少なくとも６０％、少なくとも５０％、少なくとも４０％、少なくとも３０％、少なくとも２０％、少なくとも１０％、又は少なくとも５％高い又は低いＦｃγＲＩＩＢに対する親和性を示す。

【０２２１】

一部の実施形態では、Ｆｃ変異抗体は、天然Ｆｃ抗体と比べてＣ１ｑに対する親和性の増加又は低下を示す。一部の実施形態では、Ｆｃ変異抗体は、天然Ｆｃ抗体と比べて少なくとも２倍、又は少なくとも３倍、又は少なくとも５倍、又は少なくとも７倍、又は少なくとも１０倍、又は少なくとも２０倍、又は少なくとも３０倍、又は少なくとも４０倍、又は少なくとも５０倍、又は少なくとも６０倍、又は少なくとも７０倍、又は少なくとも８０倍、又は少なくとも９０倍、又は少なくとも１００倍、又は少なくとも２００倍、又は２倍～１０倍、又は５倍～５０倍、又は２５倍～１００倍、又は７５倍～２００倍、又は１００～２００倍高い又は低いＣ１ｑ受容体に対する親和性を示す。特定の実施形態では、Ｆｃ変異抗体は、天然Ｆｃ抗体と比べて少なくとも９０％、少なくとも８０％、少なくとも７０％、少なくとも６０％、少なくとも５０％、少なくとも４０％、少なくとも３０％、少なくとも２０％、少なくとも１０％、又は少なくとも５％高い又は低いＣ１ｑに対する親和性を示す。様々な実施形態において、Ｃｉｑに対して改変された親和性を示すＦｃ変異抗体は、Ｆｃ受容体ＦｃＲｎとの結合が増強されている。さらに別の具体的な実施形態において、Ｃ１ｑに対して改変された親和性を示すＦｃ変異抗体は、天然Ｆｃ抗体と比べてＦｃγＲＩＩＩＡ及び／又はＦｃγＲＩＩＢとの結合が改変されている。

【０２２２】

Ｆｃ変異抗体は、１つ以上のＦｃγＲ媒介性エフェクター細胞機能を決定するインビト

ロ機能アッセイによって特徴付けられることが企図される。特定の実施形態では、Ｆｃ変異抗体は、インビボモデル（本明細書に記載及び開示されるものなど）において、インビトロベースのアッセイにおけるものと同様の結合特性及びエフェクター細胞機能を有する。本技術では、インビトロベースのアッセイで所望の表現型を示さないがインビボでは所望の表現型を確かに示すＦｃ変異抗体を除外しない。

【０２２３】

Ｆｃ領域を含むタンパク質の血清中半減期は、ＦｃＲｎに対するＦｃ領域の結合親和性を増加させることにより増加させてもよい。用語「抗体半減期」は、本明細書で使用されるとき、抗体分子の投与後の平均生存時間の尺度である抗体の薬物動態学的特性を意味する。抗体半減期は、例えば、血清中で計測するとき（すなわち循環半減期）、又は他の組織で計測するとき、既知量の免疫グロブリンの５０パーセントを患者（又は他の哺乳動物）の体内又はその特定のコンパートメントから排除するのに必要な時間として表すことができる。半減期は、免疫グロブリン又は免疫グロブリンクラスによって異なり得る。一般に、抗体半減期が増加すると、投与された抗体の循環中平均滞留時間（ＭＲＴ）が増加する。

【０２２４】

半減期が増加すると、患者に投与する薬物の量を減らすとともに、投与頻度を低下させることができる。半減期の増加はまた、例えば、黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃａｌ　ａｕｒｅｕｓ）関連疾患又は病態の予防に、また多くの場合に患者が一度退院した後に起こり得る感染の再発の予防にも、有益であり得る。抗体の血清中半減期を増加させるため、当該技術分野において公知のとおり、抗体（特に抗体断片）にサルベージ受容体結合エピトープを組み込み得る。本明細書で使用されるとき、用語「サルベージ受容体結合エピトープ」は、ＩｇＧ分子のインビボ血清中半減期の増加に関与するＩｇＧ分子（例えば、ＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３、又はＩｇＧ４）のＦｃ領域のエピトープを指す。半減期が増加した抗体はまた、ＦｃとＦｃＲｎ受容体との間の相互作用に関与するものとして同定されるアミノ酸残基を修飾することによっても生成し得る。加えて、抗α毒素抗体又は断片の半減期は、当該技術分野で広く利用されている技術によってＰＥＧ又はアルブミンとコンジュゲートすることにより増加させてもよい。一部の実施形態では、抗α毒素抗体のＦｃ変異領域を含む抗体は、天然のＦｃ領域を含む抗体と比較して半減期が約５％、約１０％、約１５％、約２０％、約２５％、約３０％、約３５％、約４０％、約４５％、約５０％、約６０％、約６５％、約７０％、約８０％、約８５％、約９０％、約９５％、約１００％、約１２５％、約１５０％以上増加している。一部の実施形態では、Ｆｃ変異領域を含む抗体は、天然のＦｃ領域を含む抗体と比較して半減期が約２倍、約３倍、約４倍、約５倍、約１０倍、約２０倍、約５０倍以上、又は２倍～１０倍、又は５倍～２５倍、又は１５倍～５０倍増加している。

【０２２５】

一部の実施形態では、本明細書に提示される技術はＦｃ変異体を提供し、ここでＦｃ領域は、カバットに定められるとおりのＥＵインデックスにより付番するとき２３４、２３５、２３６、２３７、２３８、２３９、２４０、２４１、２４３、２４４、２４５、２４７、２５１、２５２、２５４、２５５、２５６、２６２、２６３、２６４、２６５、２６６、２６７、２６８、２６９、２７９、２８０、２８４、２９２、２９６、２９７、２９８、２９９、３０５、３１３、３１６、３２５、３２６、３２７、３２８、３２９、３３０、３３１、３３２、３３３、３３４、３３９、３４１、３４３、３７０、３７３、３７８、３９２、４１６、４１９、４２１、４４０及び４４３からなる群から選択される１つ以上の位置に修飾（例えば、アミノ酸置換、アミノ酸挿入、アミノ酸欠失）を含む。場合により、Ｆｃ領域は、当該技術分野において公知の追加的及び／又は代替的な位置に天然に存在しないアミノ酸残基を含み得る。

【０２２６】

特定の実施形態において、本明細書にはＦｃ変異体が提供され、ここでＦｃ領域は、カバットに定められるとおりのＥＵインデックスにより付番するとき２３４Ｄ、２３４Ｅ、

２３４Ｎ、２３４Ｑ、２３４Ｔ、２３４Ｈ、２３４Ｙ、２３４Ｉ、２３４Ｖ、２３４Ｆ、２３５Ａ、２３５Ｄ、２３５Ｒ、２３５Ｗ、２３５Ｐ、２３５Ｓ、２３５Ｎ、２３５Ｑ、２３５Ｔ、２３５Ｈ、２３５Ｙ、２３５Ｉ、２３５Ｖ、２３５Ｆ、２３６Ｅ、２３９Ｄ、２３９Ｅ、２３９Ｎ、２３９Ｑ、２３９Ｆ、２３９Ｔ、２３９Ｈ、２３９Ｙ、２４０Ｉ、２４０Ａ、２４０Ｔ、２４０Ｍ、２４１Ｗ、２４１Ｌ、２４１Ｙ、２４１Ｅ、２４１Ｒ、２４３Ｗ、２４３Ｌ、２４３Ｙ、２４３Ｒ、２４３Ｑ、２４４Ｈ、２４５Ａ、２４７Ｌ、２４７Ｖ、２４７Ｇ、２５１Ｆ、２５２Ｙ、２５４Ｔ、２５５Ｌ、２５６Ｅ、２５６Ｍ、２６２Ｉ、２６２Ａ、２６２Ｔ、２６２Ｅ、２６３Ｉ、２６３Ａ、２６３Ｔ、２６３Ｍ、２６４Ｌ、２６４Ｉ、２６４Ｗ、２６４Ｔ、２６４Ｒ、２６４Ｆ、２６４Ｍ、２６４Ｙ、２６４Ｅ、２６５Ｇ、２６５Ｎ、２６５Ｑ、２６５Ｙ、２６５Ｆ、２６５Ｖ、２６５Ｉ、２６５Ｌ、２６５Ｈ、２６５Ｔ、２６６Ｉ、２６６Ａ、２６６Ｔ、２６６Ｍ、２６７Ｑ、２６７Ｌ、２６８Ｅ、２６９Ｈ、２６９Ｙ、２６９Ｆ、２６９Ｒ、２７０Ｅ、２８０Ａ、２８４Ｍ、２９２Ｐ、２９２Ｌ、２９６Ｅ、２９６Ｑ、２９６Ｄ、２９６Ｎ、２９６Ｓ、２９６Ｔ、２９６Ｌ、２９６Ｉ、２９６Ｈ、２６９Ｇ、２９７Ｓ、２９７Ｄ、２９７Ｅ、２９８Ｈ、２９８Ｉ、２９８Ｔ、２９８Ｆ、２９９Ｉ、２９９Ｌ、２９９Ａ、２９９Ｓ、２９９Ｖ、２９９Ｈ、２９９Ｆ、２９９Ｅ、３０５Ｉ、３１３Ｆ、３１６Ｄ、３２５Ｑ、３２５Ｌ、３２５Ｉ、３２５Ｄ、３２５Ｅ、３２５Ａ、３２５Ｔ、３２５Ｖ、３２５Ｈ、３２７Ｇ、３２７Ｗ、３２７Ｎ、３２７Ｌ、３２８Ｓ、３２８Ｍ、３２８Ｄ、３２８Ｅ、３２８Ｎ、３２８Ｑ、３２８Ｆ、３２８Ｉ、３２８Ｖ、３２８Ｔ、３２８Ｈ、３２８Ａ、３２９Ｆ、３２９Ｈ、３２９Ｑ、３３０Ｋ、３３０Ｇ、３３０Ｔ、３３０Ｃ、３３０Ｌ、３３０Ｙ、３３０Ｖ、３３０Ｉ、３３０Ｆ、３３０Ｒ、３３０Ｈ、３３１Ｇ、３３１Ａ、３３１Ｌ、３３１Ｍ、３３１Ｆ、３３１Ｗ、３３１Ｋ、３３１Ｑ、３３１Ｅ、３３１Ｓ、３３１Ｖ、３３１Ｉ、３３１Ｃ、３３１Ｙ、３３１Ｈ、３３１Ｒ、３３１Ｎ、３３１Ｄ、３３１Ｔ、３３２Ｄ、３３２Ｓ、３３２Ｗ、３３２Ｆ、３３２Ｅ、３３２Ｎ、３３２Ｑ、３３２Ｔ、３３２Ｈ、３３２Ｙ、３３２Ａ、３３９Ｔ、３７０Ｅ、３７０Ｎ、３７８Ｄ、３９２Ｔ、３９６Ｌ、４１６Ｇ、４１９Ｈ、４２１Ｋ、４４０Ｙ及び４３４Ｗからなる群から選択される少なくとも１つの置換を含む。場合により、Ｆｃ領域は、当該技術分野において公知の追加的及び／又は代替的な天然に存在しないアミノ酸残基を含み得る。

【０２２７】

様々な実施形態において、本明細書にはＦｃ変異抗体が提供され、ここでＦｃ領域は、２３４、２３５及び３３１からなる群から選択される１つ以上の位置に少なくとも１つの修飾（例えば、アミノ酸置換、アミノ酸挿入、アミノ酸欠失）を含む。一部の実施形態では、天然に存在しないアミノ酸は、２３４Ｆ、２３５Ｆ、２３５Ｙ、及び３３１Ｓからなる群から選択される。本明細書にはＦｃ変異体が提供され、ここでＦｃ領域は、２３９、３３０及び３３２からなる群から選択される１つ以上の位置に少なくとも１つの天然に存在しないアミノ酸を含む。一部の実施形態で、天然に存在しないアミノ酸は、２３９Ｄ、３３０Ｌ及び３３２Ｅからなる群から選択される。

【０２２８】

一部の実施形態において、本明細書にはＦｃ変異抗体が提供され、ここでＦｃ領域は、２５２、２５４、及び２５６からなる群から選択される１つ以上の位置に少なくとも１つの天然に存在しないアミノ酸を含む。特定の実施形態では、天然に存在しないアミノ酸は、米国特許第７，０８３，７８４号明細書（この内容は全体として参照により本明細書に援用される）に記載される２５２Ｙ、２５４Ｔ及び２５６Ｅからなる群から選択される。

【０２２９】

特定の実施形態において、本明細書には、抗体の血清中半減期を増加させるＦｃ変異領域を有する抗ブドウ球菌α毒素抗体が提供され、ここで抗体は、以下の重鎖及び軽鎖配列を有する：

重鎖：ＬＣ１０－ＩｇＧ１－ＹＴＥ

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSHDMHWVRQATGKGLEWVSGIGTAGDTYYPDSV
KGRFTISRENAKNSLYLQMNSLRAGDTAVYYCARDRYSPTGHYYGMDVWGQGTTVTVSSASTKG
PSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT
VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLYI
TREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK
EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES
NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

（配列番号ＸＸ）

軽鎖：ＬＣ１０－κ

DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRASQSISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYKASSLESGVPSRFSGSG
SGTEFTLTISSLQPDDFATYYCKQYADYWTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVV
CLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVT
HQGLSSPVTKSFNRGEC

（配列番号ＹＹ）

【０２３０】

特定の実施形態では、ＩｇＧ抗体により誘発されるエフェクター機能は、タンパク質のＦｃ領域に連結している炭水化物部分に強く依存する。従って、Ｆｃ領域のグリコシル化を修飾すると、エフェクター機能を増加又は低下させることができる。従って、一部の実施形態では、本明細書に提供される抗α毒素抗体及び断片のＦｃ領域は、アミノ酸残基のグリコシル化の改変を含む。特定の実施形態では、アミノ酸残基のグリコシル化の改変はエフェクター機能の低下をもたらす。特定の実施形態では、アミノ酸残基のグリコシル化の改変はエフェクター機能の増加をもたらす。一部の実施形態では、Ｆｃ領域のフコシル化が低下している。特定の実施形態では、Ｆｃ領域は非フコシル化型である。

【０２３１】

一部の実施形態では、本明細書におけるＦｃ変異体は、当該技術分野において公知のとおりの他の公知のＦｃ変異体と組み合わされてもよい。Ｆｃドメインの他の修飾及び／又は置換及び／又は付加及び／又は欠失を導入することができる。

【０２３２】

グリコシル化

グリコシル化が抗体のエフェクター機能を改変する能力に加え、可変領域におけるグリコシル化の修飾が、標的抗原に対する抗体の親和性を改変し得る。一部の実施形態では、本抗体の可変領域のグリコシル化パターンが修飾される。例えば、非グリコシル化抗体を作製することができる（すなわち、抗体はグリコシル化を欠いている）。グリコシル化を改変することにより、例えば標的抗原に対する抗体の親和性を増加させることができる。かかる炭水化物修飾は、例えば抗体配列内の１つ以上のグリコシル化部位を改変することにより達成することができる。例えば、１つ以上の可変領域フレームワークグリコシル化部位の除去をもたらし、それにより当該部位のグリコシル化をなくす１つ以上のアミノ酸置換を生じさせることができる。かかる非グリコシル化により、抗原に対する抗体の親和性が増加し得る。Ｆｃ領域に存在するグリコシル化部位（例えば、ＩｇＧのアスパラギン２９７）の除去をもたらす１つ以上のアミノ酸置換もまた生じさせることができる。さらに、必要なグリコシル化機構を欠いている細菌細胞で非グリコシル化抗体を産生してもよい。

【０２３３】

抗体コンジュゲート

特定の実施形態では、本明細書に提示される抗体は、当該技術分野において公知の方法を用いて物質とコンジュゲートされ、又は共有結合的に結合される。一部の実施形態では

、結合させる物質は、検出可能標識（本明細書ではレポーター分子とも称される）又は固体担体である。抗体との結合に好適な物質としては、限定はされないが、アミノ酸、ペプチド、タンパク質、多糖、ヌクレオシド、ヌクレオチド、オリゴヌクレオチド、核酸、ハプテン、薬物、ホルモン、脂質、脂質集合体、合成ポリマー、ポリマー微粒子、生体細胞、ウイルス、フルオロフォア、発色団、色素、毒素、ハプテン、酵素、抗体、抗体断片、放射性同位体、固体基材、半固体基材及びそれらの組み合わせが挙げられる。抗体に別の物質をコンジュゲート又は共有結合的に結合する方法は、当該技術分野において公知である。

【０２３４】

診断的使用方法

α毒素は、通常黄色ブドウ球菌（Ｓ．ａｕｒｅｕｓ）の病原性株のみに見られるビルレンス因子である。α毒素は、ときに活性複合体の形成の一部として細胞表面受容体に結合する。しかしながら、特定の受容体との結合がない場合にオリゴマー形成及び膜貫通孔（例えばα毒素ヘプタマー）の形成が起こり得る。細胞の機能障害及び溶解におけるオリゴマー化したα毒素の作用（例えば膜貫通孔の形成）により、侵入する黄色ブドウ球菌（Ｓ．ａｕｒｅｕｓ）細菌の定着が促進される。本明細書に記載される抗体は、α毒素分子上の領域を直接認識するか、又はα毒素モノマー間相互作用に関わる領域を間接的に認識することにより、α毒素モノマーが集合又はオリゴマー化して膜貫通孔になるのを阻害する。

【０２３５】

特定の実施形態では、本明細書に提示される抗α毒素抗体及び断片及び組成物は、α毒素及び／又はα毒素関連病態／疾患を生じる黄色ブドウ球菌（Ｓ．ａｕｒｅｕｓ）株の診断用にインビボ及び／又はインビトロで使用されてもよい。これは、例えば、抗体とα毒素との間の複合体形成を許容する条件下で試験する試料を、場合により対照試料と共に抗体に接触させることにより達成することができる。次に複合体形成が（例えばＥＬＩＳＡを用いて）検出される。試験試料と共に対照試料を使用する場合、複合体は双方の試料で検出され、試料間で複合体形成に統計的に有意な差があれば、それが試験試料中の黄色ブドウ球菌（Ｓ．ａｕｒｅｕｓ）、α毒素又は黄色ブドウ球菌（Ｓ．ａｕｒｅｕｓ）及びα毒素の存在を示すものとなる。

【０２３６】

一部の実施形態では、本明細書における技術は、黄色ブドウ球菌（Ｓ．ａｕｒｅｕｓ）及び／又は他のα毒素ホモログ産生菌を含むことが疑われる試料中におけるα毒素を産生する黄色ブドウ球菌（Ｓ．ａｕｒｅｕｓ）株及び／又はα毒素の存在を決定する方法を提供し、この方法は、試料を抗α毒素抗体又は断片に曝露するステップと、試料中のα毒素に対する抗体の結合を決定するステップとを含み、ここでは試料中のα毒素に対する抗体の結合が、試料中の黄色ブドウ球菌（Ｓ．ａｕｒｅｕｓ）及び／又はα毒素の存在を示すものとなる。一部の実施形態では、試料は生体試料である。特定の実施形態では、生体試料は、黄色ブドウ球菌（Ｓ．ａｕｒｅｕｓ）関連疾患／障害に罹患している又は罹患していることが疑われる哺乳動物由来である。

【０２３７】

特定の実施形態では、抗α毒素抗体又は断片は、インビボ診断アッセイを用いた黄色ブドウ球菌（Ｓ．ａｕｒｅｕｓ）の成長及び／又はα毒素の過剰発現の検出に使用され得る。一部の実施形態では、抗α毒素抗体又は断片が試料に添加され、ここで抗体は、検出しようとするα毒素に結合するもので、且つ検出可能標識（例えば、放射性同位体又は蛍光標識）でタグ化されており、標識の局在化について患者が体外から走査される。

【０２３８】

ＩＮＦＯＲＭ（商標）（Ｖｅｎｔａｎａ，Ａｒｉｚｏｎａから販売）又はＰＡＴＨＶＩＳＩＯＮ（商標）（Ｖｙｓｉｓ，Ｉｌｌｉｎｏｉｓ）などのＦＩＳＨアッセイをホルマリン固定パラフィン包埋組織で行い、組織試料におけるα毒素過剰発現の程度を（それがある場合には）決定してもよい。

【０２３９】
特定の実施形態では、抗α毒素抗体及び断片は、組織試料、血液又は血清中のα毒素（例えば、可溶性α毒素）の検出方法において用いられ得る。一部の実施形態では、この方法は、黄色ブドウ球菌（Ｓ．ａｕｒｅｕｓ）α毒素媒介性の障害に罹患していると疑われる哺乳動物由来の組織、血液又は血清の試験試料を本明細書に提示される抗α毒素抗体又は断片と接触させるステップと、正常な哺乳動物由来の血液又は血清の対照試料と比べた試験試料中のα毒素の増加を検出するステップとを含む。一部の実施形態では、この検出方法は、哺乳動物の組織、血液又は血清中におけるα毒素の増加を伴う黄色ブドウ球菌（Ｓ．ａｕｒｅｕｓ）及び／又はα毒素媒介性障害の診断方法として有用である。
【０２４０】
治療的使用方法
特定の実施形態では、抗α毒素抗体又は断片は、α毒素媒介性病態の予防及び／又は治療のために投与され得る。本明細書には、α毒素媒介性疾患又は障害の予防、治療、管理、緩和、及び／又は阻害方法が提示され、ここでこの方法は、本明細書に提供される抗α毒素抗体及び断片を投与するステップを含む。
【０２４１】
病原性黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ａｕｒｅｕｓ）α毒素媒介性障害
特定の実施形態では、慢性及び急性の双方の病態、例えば限定はされないが、菌血症、火傷、蜂巣炎、皮膚壊死、眼瞼感染症、食中毒、関節感染、新生児結膜炎、骨髄炎、肺炎、皮膚感染、手術創感染、熱傷様皮膚症候群、心内膜炎、髄膜炎、膿瘍形成及び毒素性ショック症候群を含む幅広い病原性黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ａｕｒｅｕｓ）媒介性病態／疾患を治療及び予防するための本明細書に提示されるとおりの組成物及び抗体の投与及び使用方法が提供される。
【０２４２】
ＣＡ－ＭＲＳＡ及びＨＡ－ＭＲＳＡの双方とも、セファレキシンなどの伝統的な抗ブドウ球菌性βラクタム系抗生物質に耐性を示す。ＣＡ－ＭＲＳＡは、サルファ剤（コトリモキサゾール／トリメトプリム・スルファメトキサゾールなど）、テトラサイクリン系薬（ドキシサイクリン及びミノサイクリンなど）及びクリンダマイシンを含め、より広域の抗菌薬感受性を有するが、ヘンリー・フォード病院試験（Ｈｅｎｒｙ　Ｆｏｒｄ　Ｈｏｓｐｉｔａｌ　Ｓｔｕｄｙ）によれば、現在、ＣＡ－ＭＲＳＡの治療に対する第一選択薬はバンコマイシンであると考えられている。ＨＡ－ＭＲＳＡはこのような抗生物質にさえも耐性を示し、多くの場合にバンコマイシンにのみに感受性を有する。リネゾリド（新規オキサゾリジノンクラスに属する）及びダプトマイシンなどの最新の薬物は、ＣＡ－ＭＲＳＡ及びＨＡ－ＭＲＳＡの双方に対して有効である。
【０２４３】
特定の実施形態では、本発明の抗体又はその抗原結合断片は、例えば、βラクタム系抗生物質（セファレキシンなど）、サルファ剤（コトリモキサゾール／トリメトプリム・スルファメトキサゾールなど）、テトラサイクリン系薬（ドキシサイクリン及びミノサイクリンなど）、クリンダマイシン、バンコマイシン、リネゾリド、ダプトマイシン、テイコプラニン、キヌプリスチン／ダルホプリスチン（シナシッド（ｓｙｎｅｒｃｉｄ））、又はチゲサイクリンに対応する抗生物質と組み合わせて使用することができる。
【０２４４】
医薬製剤
特定の実施形態では、本明細書に提供される抗α毒素抗体又は断片は、医薬（治療）組成物として薬学的に許容可能な担体と共に製剤化されてもよく、及び当該技術分野において公知の様々な方法により投与されてもよい。投与経路及び／又は方式は、所望の結果によって異なり得る。本明細書で使用されるとき、抗α毒素抗体又は断片を含む医薬製剤は、本技術の製剤と称される。用語「薬学的に許容可能な担体」は、活性成分の生物活性の有効性を妨害しない１つ以上の無毒性の材料を意味する。かかる製剤は、塩、緩衝剤、防

腐剤、適合担体、及び場合により他の治療剤をルーチンに含有し得る。かかる薬学的に許容可能な製剤はまた、ヒトへの投与に好適な、適合する固形又は液状充填剤、希釈剤又は封入物質もルーチンに含有し得る。用語「担体」は、天然又は合成の、適用を促進するよう活性成分と組み合わされる有機又は無機成分を指す。本医薬組成物の構成成分はまた、所望の薬学的効力を実質的に損ない得る相互作用がないようにして本技術の抗体と、及び互いに、混じり合うことが可能である。

【０２４５】

本技術の治療組成物は、特定の投薬量に製剤化されてもよい。投薬レジメンは、最適な所望の反応（例えば治療反応）を提供するように調整され得る。例えば、単回ボーラスが投与されてもよく、いくつかの分割用量が時間をかけて投与されてもよく、又は治療状況の急迫性の指標に応じて用量を比例的に減少又は増加させてもよい。特に、投与し易く、且つ投薬量が均一になるため、非経口組成物を投薬単位形態で製剤化することが有利である。投薬単位形態は、本明細書で使用されるとき、単位投薬量として治療対象に適した物理的に個別の単位を指す；各単位は、必要な医薬担体との関連において所望の治療効果を生じるように計算された所定の活性化合物分量を含有する。投薬単位形態の詳細は、（ａ）抗α毒素抗体又は断片の固有の特性及び実現しようとする特定の治療効果、及び（ｂ）個体における感受性の治療に対してかかる抗α毒素抗体又は断片を配合する技術に固有の制約によって左右され、且つそれに直接依存する。

【０２４６】

本技術の治療組成物は、特定の投与経路、例えば、経口、経鼻、肺内、局所（頬側及び舌下を含む）、直腸、腔内及び／又は非経口投与用に製剤化することができる。製剤は、好都合には単位剤形で提供されてもよく、及び薬学の技術分野において公知の任意の方法により調製されてもよい。単一の剤形を作製するため担体材料と組み合わせ得る活性成分の量は、治療対象、及び特定の投与方式に応じて異なり得る。単一の剤形を作製するため担体材料と組み合わせ得る活性成分の量は、概して、治療効果を生み出す組成物の量であり得る。

【０２４７】

治療上有効な投薬量

本明細書に記載される抗体製剤は、好適な投薬量及び投薬レジメンで投与することができ、かかる投薬量及び投薬レジメンは、治療する疾患又は病態に依存し得る。治療上有効な投薬量は、投薬量及び投薬レジメンが治療効果又は治療エンドポイントを生じるかどうかを決定することにより特定することができる。

【０２４８】

製品及びキット

本明細書では、本明細書の液体製剤又は凍結乾燥製剤が充填された１つ以上の容器を含む医薬パック又はキットが提供される。一部の実施形態では、本明細書の液体製剤が充填された容器はプレフィルドシリンジである。具体的な実施形態において、本明細書における製剤は、限定はされないが、異種タンパク質、異種ポリペプチド、異種ペプチド、巨大分子、小分子、マーカー配列、診断用の又は検出可能な薬剤、治療用部分、薬物部分、放射性金属イオン、二次抗体、及び固体担体を含む別の部分と組換え融合されるか、又は化学的にコンジュゲートされた抗α毒素抗体及び断片を含む。特定の実施形態では、本明細書における製剤は、単回用量バイアルに滅菌液として製剤化される。本明細書における製剤は、ときにプレフィルドシリンジで供給される。

【０２４９】

特定の実施形態では、細胞からのα毒素の精製又は免疫沈降、α毒素の検出などを含め、様々な目的、例えば研究及び診断に有用な、抗α毒素抗体及び断片を含むキットもまた提供される。α毒素を単離及び精製するため、キットは、ビーズ（例えばセファロースビーズ）と結合された抗α毒素抗体又は断片を含み得る。インビトロでの、例えばＥＬＩＳＡ又はウエスタンブロットにおけるα毒素の検出及び定量化用の抗体を含むキットが提供されてもよい。製品と同様に、キットは、容器と、容器上の、又は容器に付随するラベル

又は添付文書とを含む。容器は、本明細書に開示されるとおりの少なくとも１つの抗α毒素抗体又は断片を含む組成物を保持する。例えば、希釈剤及び緩衝剤、対照抗体を収容するさらなる容器が含まれてもよい。ラベル又は添付文書は、組成物の説明並びに目的のインビトロ用途又は診断用途についての指図を提供し得る。

【０２５０】

本技術はまた、完成品の包装されたラベル付き医薬製品も包含する。この製品は、適切なベッセル又は容器、例えばガラスバイアル、プレフィルドシリンジ又は他の密封された容器に適切な単位剤形を含む。一部の実施形態では、単位剤形は、非経口投与に好適な、抗α毒素抗体又は断片を含む滅菌無粒子溶液として提供される。特定の実施形態では、単位剤形は、再構成に好適な、抗α毒素抗体又は断片を含む滅菌凍結乾燥粉末として提供される。

【０２５１】

一部の実施形態では、単位剤形は、静脈内、筋肉内、鼻腔内、経口、局所又は皮下送達に好適である。従って、本技術は、各送達経路に好適な滅菌溶液を包含する。本技術はさらに、再構成に好適な滅菌凍結乾燥粉末を包含する。

【０２５２】

任意の医薬製品と同様に、包装材料及び容器は、保管及び輸送中の製品の安定性を保護するように設計される。さらに、本明細書における製品は、当該の疾患又は障害の適切な予防又は治療方法に関して医師、技師又は患者に助言する使用説明書又は他の情報資料を含む。換言すれば、この製品は、限定はされないが、実際の用量、モニタリング手順、及び他のモニタリング情報を含めた投与レジメンを指示又は提案する指図手段を含む。

【０２５３】

具体的には、本技術は、包装材料、例えば、箱、ボトル、チューブ、バイアル、容器、プレフィルドシリンジ、噴霧器、吸入器、静注用（ｉ．ｖ．）バッグ、エンベロープなど；及び包装材料に収容される少なくとも１つの医薬品単位剤形を含む製品を提供し、ここで医薬品は、抗体を含有する液体製剤を含む。包装材料は、抗体をどのように使用すると疾患又は障害に関連する１つ以上の症状を予防、治療及び／又は管理することができるかを指示する指図手段を含む。

【０２５４】

以下に記載する例は特定の実施形態を示すが、本技術を限定するものではない。

【実施例】

【０２５５】

実施例１：材料及び方法

実施例２～実施例９及び実施例１１～実施例１３に利用する材料及び方法を以下に提供する。

【０２５６】

野生型黄色ブドウ球菌（Ｓ．ａｕｒｅｕｓ）ＡＴ及び非溶血性突然変異体Ｈ３５Ｌのクローニング及び発現

黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ ａｕｒｅｕｓ）株ＡＴＣＣ ＢＡＡ１５５６由来のゲノムＤＮＡを使用して、野生型α毒素（ＡＴ）遺伝子をＰＣＲにより増幅した。この反応には、フォワードプライマーａｔａｔａｔｇａｇｃｔｃｇｃａｇａｔｔｃｔｇａｔａｔｔａａｔａｔｔａａａａａｃｃ（配列番号４１）、リバースプライマーａｔａｔａａｇｃｔｔａａｔｔｔｇｔｃａｔｔｔｃｔｔｃｔｔｔｔｔｔｃｃｃ（配列番号４２）、及び約１０ｎｇのゲノムＤＮＡが、Ｈｅｒｃｕｌａｓｅ ＩＩポリメラーゼ（Ｓｔｒａｔａｇｅｎｅ）を使用した５０μｌの反応物中に含まれた。得られた断片をＳａｃＩ及びＨｉｎｄ ＩＩＩで消化し、ｐＣｏｌｄ ＩＩ ＤＮＡベクター（ＴａＫａＲａ）にＮ末端６ＸＨｉｓタグとインフレームでライゲートした。ＱｕｉｋＣｈａｎｇｅ ＩＩ ＸＬ部位特異的突然変異誘発キット（Ｓｔｒａｔａｇｅｎｅ）を製造者の指示に従い使用して、野生型遺伝子の部位特異的突然変異誘発によりＨ３５Ｌ突然変異体を生成した。突然変異誘発に利用した変異原性プライマーは、ｇａｔａａａｇａａａａｔｇｇｃａｔｇ

ｃｔｃａａａａａａｇｔａｔｔｔｔａｔａｇｔｔｔｔａｔｃ（配列番号４３）及びｇａｔａａａａｃｔａｔａａａａｔａｃｔｔｔｔｔｔｔｇａｇｃａｔｇｃｃａｔｔｔｔｃｔｔｔａｔｃ（配列番号４４）であった。

【０２５７】

自動化されたＤＮＡシーケンシングにより野生型ＡＴ及びＡＴ$_{H35L}$突然変異体の配列を確認した。野生型及びＨ３５Ｌ突然変異体α毒素を大腸菌（Ｅ．ｃｏｌｉ）ＢＬ２１株で発現させた。ＬＢ＋カルベニシリンで成長させた５０ｍｌの一晩培養物を５００ｍｌ培養液に１：１０希釈し、Ａ$_{600}$が約０．５になるまで３７℃で成長させた。培養物を３０分間１５℃にシフトさせ、次に１Ｍ　ＩＰＴＧを添加して約１００ｍＭの終濃度とした。培養物を１５℃でさらに２４時間インキュベートした。細胞を遠心により回収した。

【０２５８】

組換えｈｉｓタグ付きα毒素（ｒＡＴ－ｈｉｓ）の精製

細菌細胞ペレットを氷上で解凍し、Ｎｉ－ＮＴＡ緩衝液Ａ（２０ｍＭリン酸ナトリウム、ｐＨ７．２、３００ｍＭ　ＮａＣｌ）に再懸濁した。２０，０００ｐｓｉでのマイクロフルイダイゼーション（Ｍｉｃｒｏｆｌｕｉｄｉｃｓ　モデルＭ－１１０Ｐ）により細胞を溶解し、粗ライセートを４℃、２７，０００×ｇで１０分間遠心することにより清澄化した。０．２μｍでろ過した後、Ｎｉ－ＮＴＡ緩衝液Ａで平衡化した５ｍｌ　Ｎｉ－ＮＴＡ　Ｓｕｐｅｒｆｌｏｗカラム（Ｑｉａｇｅｎ）に上清を負荷した。ｒＡＴ－ｈｉｓを３００ｍＭ及び５００ｍＭイミダゾール段階勾配で溶離し、画分を、終濃度１ｍＭのＥＤＴＡが入ったチューブに収集し、ＳＰ緩衝液Ａ（５０ｍＭリン酸ナトリウム、ｐＨ７．０、２５ｍＭ　ＮａＣｌ、１ｍＭ　ＥＤＴＡ）に透析した。透析物をＳＰ緩衝液Ａ中５ｍｌ　ＨｉＴｒａｐ　ＳＰセファロースＦＦカラム（ＧＥ　Ｈｅａｌｔｈｃａｒｅ）に負荷し、ｒＡＴ－ｈｉｓを１Ｍ　ＮａＣｌへの段階勾配で溶離した。ｒＡＴ－ｈｉｓを含む画分を、１ｍＭ　ＥＤＴＡを含有する１×ＰＢＳ、ｐＨ７．２に透析し、アリコートを－８０℃で凍結した。

【０２５９】

黄色ブドウ球菌（Ｓ．ａｕｒｅｕｓ）からの天然α毒素の精製

黄色ブドウ球菌（Ｓ．ａｕｒｅｕｓ）Ｗｏｏｄ株から天然α毒素（ｎＡＴ）を精製した。黄色ブドウ球菌（Ｓ．ａｕｒｅｕｓ）Ｗｏｏｄ株を、振盪しながら（例えば約２５０ＲＰＭ）、３７℃のトリプシン大豆ブロス（ＴＳＢ）中で一晩成長させた。遠心により培養上清を回収し、次に固形硫酸アンモニウムで７５％飽和にした。４℃で３時間撹拌した後、沈殿物を、１２，０００×ｇで４５分間遠心することによって捕捉し、ＳＰ緩衝液Ａ（２５ｍＭ酢酸ナトリウム、ｐＨ５．２、２０ｍＭ　ＮａＣｌ、１ｍＭ　ＥＤＴＡ）に再懸濁し、ＳＰ緩衝液Ａに対して４℃で一晩、１回の交換を伴い透析した。２７，０００×ｇ、４℃で３０分間遠心して不溶性材料を除去した。可溶性透析物をろ過し（０．２μｍ）、ＳＰ緩衝液Ａで平衡化した１０ｍｌ　ＳＰセファロースＦＦカラム（ＧＥ　Ｈｅａｌｔｈｃａｒｅ）に負荷した。３００ｍＭ　ＮａＣｌまでの線形勾配と、続く０．５及び１Ｍ　ＮａＣｌの段階勾配により、結合したｎＡＴを溶離した。ｎＡＴを含む画分をプールし、１ｍＭ　ＥＤＴＡを含有するＰＢＳ、ｐＨ７．２に一晩透析した。最終的な処理として、透析物をＨｉＰｒｅｐ　Ｓｅｐｈａｃｒｙｌ　Ｓ－２００高分解能カラム（ＧＥ　Ｈｅａｌｔｈｃａｒｅ）に、１ｍＭ　ＥＤＴＡを含有する１×ＰＢＳ、ｐＨ７．２中１．３ｍｌ／分の流量で負荷した。ｎＡＴを含む画分をプールし、アリコートに分け、－８０℃で凍結した。

【０２６０】

免疫化／ハイブリドーマ生成

８週齢のＶｅｌｏｃＩｍｍｕｎｅマウスに対し、ＲＩＭＭＳ免疫化レジームＫｉｌｐａｔｒｉｃｋ　ｅｔ　ａｌ（１９９７）に従い複数部位に5ラウンドのｒＡＴ$_{H35L}$の皮下注射を投与した。マウスは１３日間にわたり２～３日置きに免疫した。各免疫化ラウンドにつき、初めにマウスをイソフルラン（ｉｓｏｆｌｕｏｒａｎｅ）で麻酔した。完全又は不完全フロイントアジュバント及びＴｉｔｅｒＭａｘ　Ｇｏｌｄアジュバントに免疫原

を乳化し、首項部、腋窩部、腓腹部及び尾径部に両側性に注入した。１３日目に試験出血を採取し、抗原ＥＬＩＳＡでアッセイした。マウスに予備的融合ブーストを腹腔内投与し、１７日目に犠牲にした。リンパ節リンパ球及び脾細胞を骨髄腫パートナーに融合させて安定的なハイブリドーマを生成した。

【０２６１】

溶血活性の中和

５０マイクロリットルの各Ｂ細胞ハイブリドーマ培養上清を組換えα毒素－Ｈｉｓ（ｒＡＴ－ｈｉｓ、０．１μｇ／ｍｌ終濃度）と９６ウェルプレートにおいて混合し、続いてＰＢＳ中５０μｌの５％ウサギ赤血球細胞（ＲＢＣ）を添加した。対照ウェルには、ＲＢＣ及びＡＴ含有又は不含の培養培地のみを入れた。プレートを３７℃で１時間インキュベートし、インタクトな細胞を遠心によりペレット化した。５０μｌの上清を新しい９６ウェルプレートに移し、分光光度計でA_{490}を計測した。中和活性をＲＢＣ及びｒＡＴ－ｈｉｓ単独による溶解に対して計算し、以下を計算した：阻害％＝１００×［１００－（A_{490}　ｎＡＴ＋Ａｂ）／（A_{490}　ｎＡＴ　Ａｂ無し）］。

【０２６２】

精製ｍＡｂによる阻害もまた試験した。抗ＡＴ　ｍＡｂをＰＢＳ中約８０μｇ／ｍＬで９６ウェルプレートに添加し、試料を最終容量が５０μＬとなるようＰＢＳに段階希釈（２倍）した。非特異的なＩｇＧ１（Ｒ３４７）をアイソタイプ対照として含めた。２５マイクロリットルのｍＡｂ希釈物を２５μＬのｎＡＴ（天然α毒素）と９６ウェル丸底プレートに約０．１μｇ／ｍＬで混合し、続いて５０μＬの５％ＲＢＣを添加した。溶血活性の阻害を上記のとおり計算した。

【０２６３】

キメラ抗ＡＴ　ｍＡｂの発現及び精製

タンジェンシャルフローろ過により、清澄化したマウス抗ＡＴ上清（３０～５０ｍｇ／Ｌで約５Ｌ）を濃縮した。次に濃縮した上清を５つの５ｍＬプロテインＧ　ＨｉＴｒａｐ　ＨＰカラムに順に通し、結合したＩｇＧを５０ｍＭ重炭酸ナトリウム、ｐＨ１１．０で溶離し、１Ｍリン酸で約ｐＨ７．０に中和した。中和した材料を２つの１ｍＬ　ＨｉＴｒａｐ　Ｑ　ＦＦ（ＧＥ　Ｈｅａｌｔｈｃａｒｅ）カラムに順に負荷した。ＩｇＧを含む通過液を回収し、ＰＢＳ　ｐＨ７．２に透析した。

【０２６４】

Ａ５４９溶解の中和

Ａ５４９細胞を、非必須アミノ酸、グルタミン及び１０％ウシ胎仔血清を補足したＲＭＰＩ中、５％CO_2、３７℃のインキュベーターに維持した。細胞をハンクス平衡培地で１回洗浄し、ＲＰＭＩ、５％ＦＢＳ中５０μｌに基づき10^4／ウェルで播き、３７℃、５％CO_2で２０時間インキュベートした。抗ＡＴ　ｍＡｂをＲＰＭＩ中８０μｇ／ｍＬで９６ウェルプレートに添加し、試料をＲＰＭＩに段階希釈（２倍）した。関連性のないＩｇＧ１（Ｒ３４７）をアイソタイプ対照として含めた。別の９６ウェルプレートにおいて、３０μｌの希釈抗体を３０μｌのｎＡＴと混合した（終濃度５μｇ／ｍｌ）。各ウェルから５０マイクロリットルを、付着Ａ５４９細胞が入ったプレートに移した。ｎＡＴを含む又は含まないＡ５４９細胞の対照ウェルを含めた。プレートを３７℃、５％CO_2で３時間インキュベートし、遠心し、５０μｌの上清を新しい９６ウェルプレートに移した。Ｃｙｔｏｔｏｘ　９６非放射性アッセイキット（Ｐｒｏｍｅｇａ）を製造者のプロトコルに従い使用して、細胞溶解を乳酸デヒドロゲナーゼ（ＬＤＨ）の放出として計測した。バックラウンドＬＤＨを各ウェルから減じ、ＬＤＨ放出の阻害を計算した：阻害％＝１００×［１００－（A_{590}　ｎＡＴ＋　Ａｂ）／（A_{590}　ｎＡＴ　Ａｂ無し）］。

【０２６５】

ＴＨＰ－１溶解の中和

ＴＨＰ－１細胞を、非必須アミノ酸（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ）、２ｍＭグルタミン（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ）及び１０％ウシ胎仔血清（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ）を補足したＲＰＭＩ培地（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ）中、５％CO_2、３７℃のインキュベーターに維持し

た。抗ＡＴ　ｍＡｂをＲＰＭＩ中８０μｇ／ｍｌで９６ウェルプレートに添加し、試料を最終容量が５０μＬとなるようにＲＰＭＩに段階希釈（２倍）した。関連性のないＩｇＧ１（Ｒ３４７）をアイソタイプ対照として含めた。２５マイクロリットルのｍＡｂ希釈物を２５μｌの天然α毒素（ｎＡＴ）と最終１．５μｇ／ｍｌで混合し、続いて５０μｌのＲＭＰＩで洗浄したＴＨＰ－１細胞（１０％ＦＢＳ含有ＲＰＭＩ中10^6細胞／ｍｌ）を９６ウェルプレートに添加した。対照ウェルは、単独又はｎＡＴ有りのＴＨＰ－１細胞から構成された。プレートを５％CO_2、３７℃のインキュベーターで３時間インキュベートし、遠心し、５０μｌの上清を新しい９６ウェルプレートに移した。Ｃｙｔｏｔｏｘ９６非放射性アッセイキット（Ｐｒｏｍｅｇａ）を製造者の指示に従い使用して、細胞溶解を乳酸デヒドロゲナーゼ（ＬＤＨ）の放出として計測した。ＬＤＨ放出の阻害を上記に記載したとおり計算した。

【０２６６】

抗ＡＴ　ＩｇＧ　ｍＡｂのクローニング及び完全ヒトｍＡｂとしての発現

Ｄｙｎａｂｅａｄｓ　ｍＲＮＡ　Ｄｉｒｅｃｔキット（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ）を使用して、５個のハイブリドーマクローン２Ａ３、１０Ａ７、１２Ｂ８、２５Ｅ９及び２８Ｆ６のｍＲＮＡを単離した。ＳｕｐｅｒＳｃｒｉｐｔ　ＩＩＩ（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ）逆転写酵素及びランダムヘプタマープライマーを使用して、ｃＤＮＡの第１鎖を合成した。Ｉｇ－プライマーセット（Ｎｏｖａｇｅｎ，カタログ番号６９８３０）を使用して、ヒトＩｇ　V_L（κ）及びV_HをＰＣＲにより増幅した。ＰＣＲ増幅したＶＬ及びＶＨ産物をＴＯＰＯ　ＴＡベクター（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ　ｐＣＲ２．１－ＴＯＰＯ）にクローニングして配列決定した。各ハイブリドーマからのV_H及びV_L（κ）を、ヒトＩｇＧ．κ．ｐＯＥベクターへのクローニング用の制限酵素部位を追加してＰＣＲにより再増幅し、ここでV_Lは、ヒトｃ－κと融合したＢｓｓＨＩＩ／ＢｓｉＷＩ部位にクローニングし、V_Hは、ヒトＩｇＧ－１重鎖定常領域と融合したＢｓｒＧＩ／ＳａｌＩ部位にクローニングした。得られたｐＯＥプラスミドをＤＮＡシーケンシングによって確かめた。

【０２６７】

抗α毒素ｍＡｂの発現及び精製

Ｅｎｄｏｆｒｅｅ　Ｐｌａｓｍｉｄ　Ｍａｘｉキット（Ｑｉａｇｅｎ）を使用してｐＯＥコンストラクトのプラスミドＤＮＡを調製した。ｐＯＥプラスミドを、Ｆｒｅｅｓｔｙｌｅ　２９３発現培地（ＧＩＢＣＯ）中の２９３ｆｅｃｔｉｎ試薬（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ）を使用して２９３Ｆ懸濁細胞にトランスフェクトした。トランスフェクション後６日目及び９日目、培養培地を回収し、プロテインＡセファロースカラム（ＧＥ　Ｈｅａｌｔｈｃａｒｅ）を使用してＩｇＧを精製した。ＩｇＧを含むピークをプールし、ＰＢＳ、ｐＨ７．４に透析し、－７０℃で保存した。ＩｇＧタンパク質の純度をＳＤＳ－ＰＡＧＥによって確かめた。

【０２６８】

マウス肺炎モデル

感染２４時間前、１０匹の７～９週齢Ｃ５７ＢＬ／６Ｊマウス（Ｈａｒｌａｎ）の群に、示される濃度の０．５ｍｌのｍＡｂを腹腔内注射によって投与した。次に動物をイソフルラン（ｉｓｏｆｌｕｏｒａｎｅ）で麻酔して垂直に保ち、滅菌ＰＢＳ中０．０５ｍｌの黄色ブドウ球菌（Ｓ．ａｕｒｅｕｓ）細菌懸濁液（1×10^8ＣＦＵ～3×10^8ＣＦＵ）を左右鼻孔に接種した。動物を仰臥位でケージに入れて回復させ、試験時間の経過中１日２回観察した。動物の生存を最大６日間モニタした。

【０２６９】

或いは、動物は細菌感染４８時間後にCO_2吸入によって安楽死させた。肺及び腎臓を滅菌ＰＢＳ中に摘出し、ホモジナイズし、希釈して播き、細菌を計数した。ログ・ランク検定を用いて死亡率試験の統計的有意性を決定した。分散分析及びダネットの事後検定を用いて臓器からの細菌回収の有意性を計算した。

【０２７０】

皮膚壊死マウスモデル

５匹の６～８週齢雌ＢＡＬＢ／ｃマウス（Ｈａｒｌａｎ）の群について背中を剪毛し、腹腔内注射によりグラフに示す濃度の０．５ｍｌ　ＩｇＧを投与した。２４時間後、５０μＬの細菌懸濁液（1×10^{8}黄色ブドウ球菌（Ｓ．ａｕｒｅｕｓ））を皮下注射することによりマウスを感染させた。動物を感染の徴候について１日２回モニタし、同時に膿瘍のサイズを毎日計測した。病変面積は式Ａ＝Ｌ×Ｗを使用して計算した。分散分析及びダネットの事後検定を用いて統計的有意性を決定した。

【０２７１】

受容体結合アッセイ

５００ｍＬの溶解緩衝液（５ｍＭリン酸、１ｍＭ　ＥＤＴＡ、ｐＨ７．４）中の洗浄し充填した５ｍＬのウサギ赤血球細胞（ＲＢＣ）を常に撹拌しながら４℃で一晩インキュベートすることにより、赤血球細胞ゴーストを調製した。次にこのゴーストを１５，０００×ｇで遠心することにより取り出し、溶解緩衝液で３回洗浄した。次にそれをＰＢＳ中で洗浄し、最終容量３ｍＬで再懸濁した。

【０２７２】

ｎＡＴの細胞膜との結合を評価するため、ＲＢＣゴーストをOD_{600}約０．２までＰＢＳ中に希釈し、５０μＬを１／２ウェルの９６ウェルプレート（Ｃｏｓｔａｒ）にコーティングし、４℃で一晩インキュベートした。次にプレートから液体を除去し、ウェルを、ＰＢＳ、ｐＨ７．４中１００μＬの１％ＢＳＡにより４℃で２時間ブロックし、ＰＢＳで３回洗浄した。２０モル過剰のＩｇＧを３μｇ／ｍＬでｎＡＴと混合し、ブロックしたプレートに５０μＬを添加した。プレートを４℃で２時間インキュベートし、ＰＢＳで３回洗浄した。ビオチン標識ウサギ抗ＡＴ　ＩｇＧを１ｍｇ／ｍＬでウェルに添加し、４℃で１時間インキュベートし、３回洗浄し、ストレプトアビジンペルオキシダーゼコンジュゲート（１：３０，０００、Ｊａｃｋｓｏｎ　Ｉｍｍｕｎｏｒｅｓｅａｒｃｈ）とインキュベートした。ウェルを３回洗浄し、Ｓｕｒｅ　Ｂｌｕｅ　Ｒｅｓｅｒｖｅ（ＫＰＬ，Ｉｎｃ．）で発色させた。プレートリーダー（Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｄｅｖｉｃｅｓ）を使用してA_{450}を読み取り、％ＡＴ結合を計算した。％ＡＴ結合＝１００×（A_{450}－ＡＴ＋ＩｇＧ／A_{450}－ＡＴ単独）

【０２７３】

オリゴマー形成アッセイ

Ｌｉｐｏｓｏｆａｓｔエクストルーダ（Ａｖｅｓｔｉｎ，Ｉｎｃ．）及び１００ｎｍ孔径の膜を使用してリポソームを生成した。卵黄ホスファチジルコリン（１５ｍｇ、Ａｖａｎｔｉ　Ｐｏｌａｒ　Ｌｉｐｉｄｓ）と、卵黄ホスファチジルグリセロール（２．９ｍｇ、Ａｖａｎｔｉ　Ｐｏｌａｒ　Ｌｉｐｉｄｓ）と、コレステロール（５．８ｍｇ、Ａｖａｎｔｉ　Ｐｏｌａｒ　Ｌｉｐｉｄｓ）とのクロロホルム中混合物（５：１：４、モル比）を、窒素流下に４０℃で乾燥させた。次に乾燥した脂質フィルムを３ｍＬのＰＢＳ、ｐＨ７．４（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ）で再水和し、３７℃で３０分間インキュベートした。次に試料を、均一な懸濁液を形成するまで激しくボルテックスし、次に、ドライアイスイソプロパノール浴及び室温の水を使用して３ラウンドの凍結融解にかけた。次に溶液をＬｉｐｏｓｏｆａｓｔエクストルーダに２１回通した。

【０２７４】

ＡＴ（０．５μｇ）を、精製ＩｇＧ、５μＬのＲＢＣゴースト及びＰＢＳと最終容量２２μＬで混合し、３７℃で４５分間インキュベートした。次に試料を、５μＬのＳＤＳ－ＰＡＧＥ試料緩衝液に３７℃で５分間可溶化し、１０μＬを４～１２％プレキャストポリアクリルアミドゲル（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ）におけるＳＤＳ－ＰＡＧＥに供した。次に別のタンパク質をニトロセルロースに移し、ＰＢＳ中のブロッカーカゼイン（Ｔｈｅｒｍｏ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ）で１０分間ブロックし、ウサギ抗ＡＴ　ＩｇＧ（２μｇ／ｍＬ）により、常に振盪しながら室温で２時間プローブした。アルカリホスファターゼ標識ヤギ抗ウサギ２と１時間インキュベートした後にＡＴバンドを検出し、ＢＣＩＰ／ＮＢＴ膜ホスファターゼ基質系（ＫＰＬ，Ｉｎｃ．）を使用して発色させた。

【０２７５】

動態速度及び結合定数（K_D）の計測

ＢＩＡｃｏｒｅ　３０００機器（ＢＩＡｃｏｒｅ，Ｉｎｃ）上でのＩｇＧ捕捉アッセイフォーマットを用いて、精製ｎＡＴに対する抗ＡＴ　ＩｇＧ抗体の結合についての動態速度定数（k_{on}、k_{off}）を計測した。簡潔に言えば、ラット抗マウスＩｇＧを、ＣＭ５センサーチップ上に製造者の指示に従い固定化した。センサーチップ上の捕捉試薬の最終面密度は、本明細書に記載されるとおり、約２５００反応単位（ＲＵ）であった。参照フローセル表面もまたこのセンサーチップ上に、同じ固定化プロトコルを用いて、且つｎＡＴは省いて調製した。抗ＡＴ　ＩｇＧ抗体を、機器緩衝液（０．０１Ｍ　ＨＥＰＥＳ、ｐＨ７．４、０．１５Ｍ　ＮａＣｌ、３ｍＭ　ＥＤＴＡ及び０．００５％Ｐ－２０を含有するＨＢＳ－ＥＰ緩衝液）中２０ｎＭで、ｎＡＴの２倍段階希釈物と共に調製した。ｎＡＴ段階希釈物は、約０．７８ｎＭ～約５０ｎＭの範囲で機器緩衝液中に作製した。

【０２７６】

動態測定には逐次的手法を利用した。初めに各抗ＡＴ　ＩｇＧを捕捉表面及び参照表面上に５０μＬ／分の流量で注入した。捕捉されたＩｇＧの結合が安定したところで、単一濃度のｎＡＴタンパク質を５０μＬ／分の流量で双方の表面上に注入した。得られた結合反応曲線を用いて会合相データを決定した。ｎＡＴの注入後、次にフローを機器緩衝液に１０分間戻して解離相データの収集を可能にし、続いて１０ｍＭグリシン、ｐＨ１．５の１分間パルスによりチップ上のＩｇＧ捕捉表面を再生させた。各ｎＡＴ濃度のデュプリケート注入からの結合反応を全ての抗ＡＴ　ＩｇＧに対して記録した。

【０２７７】

加えて、注入系列の全体にわたりいくつかの緩衝液注入を分散させた。参照細胞反応と共に選択的緩衝液注入を用いることにより、一般に「二重参照」と称される注入のアーチファクト及び／又は非特異的結合の相互作用に関する生データセットの補正を行った（Ｄ．Ｇ．Ｍｙｓｚｋａ，Ｉｍｐｒｏｖｉｎｇ　ｂｉｏｓｅｎｓｏｒ　ａｎａｌｙｓｉｓ．Ｊ．Ｍｏｌ．Ｒｅｃｏｇｎｉｔ．１２（１９９９），ｐｐ．２７９－２８４）。次に完全に補正した結合データを、検出された場合には、物質移動制限結合を補正する項が含まれる１：１結合モデルに大域的にフィットした（ＢＩＡｅｖａｌｕａｔｉｏｎ　４．１ソフトウェア，ＢＩＡｃｏｒｅ，Ｉｎｃ，Ｕｐｐｓａｌａ，Ｓｗｅｄｅｎ）。これらの分析から動態速度（ｏｎ、ｏｆｆ）定数を決定し、そこから見かけのK_Dを$k_{off}／k_{on}$として計算した。

【０２７８】

黄色ブドウ球菌（Ｓ．ａｕｒｅｕｓ）感染肺におけるサイトカイン値の計測

７～９週齢のＣ５７ＢＬ／６Ｊマウスを２Ａ３．１ｈｕ（完全ヒト２Ａ３．１）又はＲ３４７（４５ｍｇ／ｋｇ）で腹腔内注射により処置し、２４時間後に$1．５×１０^{8}$ｃｆｕのＵＳＡ３００株（ＢＡＡ－１５５６、ＡＴＣＣ）を鼻腔内感染させた。感染後４時間及び２４時間でマウスを安楽死させ、肺を１ｍｌのＰＢＳで３回フラッシュした。気管支肺胞洗浄液（ＢＡＬ）を－７０℃で保存した。７炎症誘発性ＩＩマウスサイトカインキット（Ｍｅｓｏｓｃａｌｅ，Ｇａｉｔｈｅｒｓｂｕｒｇ，ＭＤ）を製造者の指示に従い使用して、炎症誘発性サイトカインを定量化した。サイトカイン値はｐｇ／ｍｌとして表した。

【０２７９】

ＧＳＴ融合タンパク質のクローニング及び発現

AT_{1-50}及びAT_{51-293}をコードする遺伝子配列を、上記に記載されるｐＣｏｌｄＩＩ　ＡＴクローンからＰＣＲにより増幅した。反応には、１０ｎｇのＡＴ－ｐＣｏｌｄＩＩ　ＤＮＡ及び０．１ｍｇの各フォワード及びリバースプライマー（AT_{1-50}－Ｆ、ａｔａｔｔｇｇａｔｃｃｇｃａｇａｔｔｃｔｇａｔａｔｔａａｔａｔｔａａａａｃ（配列番号４５）及びAT_{1-50}－Ｒ、ａｔａｃｔｔｃｔｃｇａｇｔｔａｔｔｔａｔｔａｔｇａｔｔｔｔｔａｔｃａｔｃｇａｔａａａａｃ（配列番号４６）；又はAT_{51-293}－Ｆ　ｃａｔａｇｇｇａｔｃｃａａａｃｔｇｃｔａｇｔｔａｔｔａｇａａｃｇａａａｇ（配列番号４７）及びAT_{51-293}－Ｒ、ｃａｔａｇｃｔｃｇａｇｔｃａａｔｔ

ｔｇｔｃａｔｔｔｃｔｔｃｔｔｔｔｔｃｃｃａａｔｃ（配列番号４８））が含まれ、＊＊ＰＣＲポリメラーゼ（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ）を製造者の指示に従い使用した。得られたＰＣＲ断片をＢａｍＨＩ及びＸｈｏＩで消化し、ｐＧｅｘ　６Ｐ　ＤＮＡベクター（Ｓｔｒａｔａｇｅｎｅ）に、Ｎ末端グルタチオンＳトランスフェラーゼ（ＧＳＴ）タグとインフレームでライゲートした。クローンの配列を自動化されたＤＮＡシーケンシングによって確認した。

【０２８０】

断片の発現は、大腸菌（Ｅ．ｃｏｌｉ）のＢＬ２１（ＤＥ３）株を宿主として達成した。プレートからいくつかのコロニーを選び取り、１００ｍＬのＬＢ＋１００μｇ／ｍＬのアンピシリン（Ｓｉｇｍａ　Ｃｈｅｍｉｃａｌ　Ｃｏｍｐａｎｙ）に接種し、３７℃で一晩成長させた。一晩培養物をＬＢ＋１００μｇ／ｍＬアンピシリンの３×１Ｌ培養液に１：１００希釈し、約２５０ＲＰＭで振盪しながらＯＤ６００が約０．８になるまで成長させた。次に１ｍＭのＩＰＴＧを添加することによりタンパク質発現を誘導した。培養物は、振盪しながら３７℃で２時間インキュベートし続けた。遠心により細菌細胞を回収し、－２０℃で凍結した。

【０２８１】

細胞ペレットを１００ｍＬのＰＢＳ、ｐＨ７．４（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ）に再懸濁し、２０，０００ｐｓｉでのマイクロフルイダイゼーション（ＭｉｃｒｏｆｌｕｉｄｉｃｓモデルＭ－１１０Ｐ）により溶解し、粗ライセートを４℃、２７，０００×ｇで１０分間遠心して清澄化した。得られた上清をＧＳＴｒａｐ　ＦＦカラム（ＧＥ　Ｈｅａｌｔｈｃａｒｅ）に負荷し、ＧＳＴ－ＡＴ$_{1-50}$とＧＳＴ－ＡＴ$_{51-293}$の可溶性画分とを製造者の指示に従い精製した。不溶性ＧＳＴ－ＡＴ$_{51-293}$画分は不溶性細胞ペレットから精製した。２５ｍＭリン酸ナトリウム、ｐＨ７．４中３Ｍのグアニジン塩酸塩中で、不溶性材料を室温で約１時間、穏やかに振動させながら可溶化した。可溶化材料をリフォールディング緩衝液Ａ［２５ｍＭリン酸ナトリウム、ｐＨ７．４、２Ｍグアニジン塩酸塩含有］で７倍希釈した。ＧＳＴ－ＡＴ$_{51-293}$を徐々に透析することによりリフォールディングした。等量のリフォールディング緩衝液Ｂ［２５ｍＭリン酸ナトリウム、ｐＨ７．４］を、約２、１、次に０．５Ｍのグアニジン濃度について１２～１５時間毎に４℃で透析した後透析ビーカーに添加した。次にＧＳＴ－ＡＴ$_{51-293}$をリフォールディング緩衝液Ｂに対して２４時間透析した。最終的な透析物を遠心により清澄化し、上記に記載したとおり可溶性画分をＧＳＴｒａｐカラムで精製した。

【０２８２】

ドットブロットアッセイ

アミノ酸４０～２９３にわたる重複ペプチドを化学的に合成した（Ｎｅｗ　Ｅｎｇｌａｎｄ　Ｐｅｐｔｉｄｅ）。ＡＴ$_{1-50}$の合成を試みたが、不成功であった。α毒素（ＡＴ）、ＡＴペプチド及びＡＴ断片（１μｇ）をニトロセルロース上にスポッティングし、ＰＢＳ中ブロッカーカゼインで１０分間ブロックした。次にブロットを、２μｇ／ｍＬの個々のＩｇＧにより室温で３時間プローブした。ブロットを洗浄し、アルカリホスファターゼコンジュゲートヤギ抗マウス又はヤギ抗ウサギＩｇＧ（１：１０００、Ｃａｌｔａｇ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ）と１時間インキュベートし、ＢＣＩＰ／ＮＢＴ膜ホスファターゼ基質系（ＫＰＬ，Ｉｎｃ）を用いて発色させた。

【０２８３】

ＬＣ１０　ＹＴＥのα毒素及びＬｕｋＦ－ＰＶとの結合のＥＬＩＳＡ特性決定

Ｈｉｓタグ付きα毒素又はＬｕｋＦ－ＰＶを含有する細菌ライセートを、９６ウェルプレートの表面に４℃で一晩コーティングした。プレートをＰＢＳ／０．０５％Ｔｗｅｅｎ　２０で６回洗浄し、１０％Ｓｕｐｅｒｂｌｏｃｋブロッキング緩衝液（Ｐｉｅｒｃｅ，Ｒｏｃｋｆｏｒｄ，ＩＬ）により３７℃で１時間ブロックした。２μｇ／ｍｌのＬＣ１０ＹＴＥ又はマウス抗Ｈｉｓ　ｍＡｂ（Ｒ＆Ｄ　Ｓｙｓｔｅｍｓ，Ｍｉｎｎｅａｐｏｌｉｓ，ＭＮ）をウェルに添加し、室温で１時間インキュベートした。次にプレートをＰＢＳ／０．０５％Ｔｗｅｅｎ　２０で６回洗浄した。結合したＬＣ１０　ＹＴＥ又はマウス抗

Ｈｉｓ ｍＡｂを、それぞれ抗ヒト又は抗マウスＩｇＧ ＨＲＰコンジュゲート（Ｊａｃｋｓｏｎ ＩｍｍｕｎｏＲｅｓｅａｒｃｈ ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ，Ｉｎｃ．Ｗｅｓｔ Ｇｒｏｖｅ，ＰＡ）を使用して検出した。

【０２８４】

α毒素とＬｕｋＦ－ＰＶとの間のキメラ変異体の生成

α毒素及びＬｕｋＦ－ＰＶの部分から構成されるキメラ変異体を生成し、α毒素上のＬＣ１０ ＹＴＥの結合領域を同定した。アミノ酸１～５１、アミノ酸５２～１１０、アミノ酸１１１～１４７、アミノ酸１４８～２０５、アミノ酸２０４～２４１、又はアミノ酸２４８～２９３におけるＬｕｋＦ－ＰＶ領域をコードする６個のα毒素キメラ変異体のＤＮＡコンストラクトを遺伝子合成により生成した。他のキメラ変異体をコードするＤＮＡコンストラクトを、α毒素又はＬｕｋＦ－ＰＶをコードするｐＥＴ３ｄプラスミド（インハウスプラスミド）を鋳型として使用してオーバーラップ伸長ＰＣＲにより作成した。次に全てのＤＮＡコンストラクトをｐＥＴ３ｄ細菌発現ベクター（ＥＭＤ Ｃｈｅｍｉｃａｌｓ Ｉｎｃ，Ｐｈｉｌａｄｅｌｐｈｉａ，ＰＡ）にクローニングし、大腸菌（Ｅ．ｃｏｌｉ）ＢＬ２１株（ＤＥ３）（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ，Ｃａｒｌｓｂａｄ，ＣＡ）に形質転換した。標準的なプロトコルを用いて形質転換ＢＬ２１（ＤＥ３）細胞をＭａｇｉｃＭｅｄｉａ大腸菌（Ｅ．ｃｏｌｉ）発現培地（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ，Ｃａｒｌｓｂａｄ，ＣＡ）で成長させ、変異タンパク質を発現させた。

【０２８５】

ＰｒｏｔｅＯｎを使用したＬＣ１０ ＹＴＥとキメラ変異体との結合特性の特性決定

ＰｒｏｔｅＯｎ ＸＰＲ３６機器（ＢｉｏＲａｄ，Ｈｅｒｃｕｌｅｓ，ＣＡ）を使用して、ＬＣ１０ ＹＴＥとα毒素／ＬｕｋＦ－ＰＶキメラ変異体との結合特性を試験した。標準的なアミン結合を用いて、１０ｍＭ酢酸ナトリウム［ｐＨ５．０］中の抗α毒素ポリクローナル抗体（インハウスで生成した抗体）を、ＧＬＣバイオセンサーチップの表面に各チャネルにつき約５０００共鳴単位（ＲＵ）で固定化した。約２００ＲＵの捕捉反応が達成されるように、固定化したＧＬＣ表面上に細菌ライセート上清中のα毒素／ＬｕｋＦ－ＰＶキメラタンパク質を注入した。形質転換されていない細菌ライセート上清もまた参照チャネルと同じ条件下で注入した。ＬＣ１０ ＹＴＥ試料を、リン酸緩衝生理食塩水（ＰＢＳ）（ｐＨ７．４）、０．００５％Ｔｗｅｅｎ－２０に調製し、９０μＬ／分で１５０秒間又は１８０秒間、典型的には５０ｎＭ～３．１２５ｎＭの範囲の濃度で注入した。６００秒又は８００秒の解離時間を用いた。ＬＣ１０ ＹＴＥの注入後、以下のとおりキメラ変異体の発現レベルもまたモニタした：抗α毒素ポリクローナル抗体を、９０μＬ／分で１５０秒間又は１８０秒間、典型的には５０ｎＭ～３．１２５ｎＭの範囲の濃度で、６００秒又は８００秒の解離時間を用いて流動させた。グリシン（１０ｍＭ、ｐＨ１．５）を１００μＬ／分で３０秒間注入することにより、表面を２回再生した。全てのセンサグラムデータはＰｒｏｔｅＯｎ Ｍａｎａｇｅｒ ３．０．１ソフトウェアで処理した。

【０２８６】

実施例２：抗α毒素ｍＡｂ生成

完全ヒト可変領域がマウス定常ドメインと融合した抗体レパートリーを含むように遺伝子操作されているＶｅｌｏｃＩｍｍｕｎｅマウスにおいて、抗α毒素（ＡＴ）モノクローナル抗体（ｍＡｂ）を生成した。得られた抗体はヒト：マウスキメラであり、これは、キメラｍＡｂ由来のヒト可変ドメインをクローニングされたヒトＩｇＧ－１由来の定常領域と遺伝的に融合することにより、完全ヒトＩｇＧに容易に転換される。マウスを本明細書に記載される非溶血性ＡＴ突然変異体（$ＡＴ_{Ｈ３５Ｌ}$）で免疫し、標準方法を用いてハイブリドーマを生成した。最初に、１８００個超のハイブリドーマ上清が、組換えＡＴ（ｒＡＴ－ｈｉｓ）と結合したＩｇＧを含むことが抗原ＥＬＩＳＡにより見出された。次に、溶血アッセイにおけるｒＡＴ－ｈｉｓ媒介性のウサギ赤血球細胞（ＲＢＣ）溶解の阻害により、ｒＡＴ－ｈｉｓとの結合を示したハイブリドーマ上清を活性についてスクリーニングし、それにより機能性ｍＡｂのプールを約２５０個にまで減らした。次にハイブリドーマ上清をＩｇＧレベルに関して正規化し、その阻害活性を比較した。最も強力なｒＡＴ－

ｈｉｓ阻害剤の１３個を限界希釈クローニング用に選択し、小規模ＩｇＧ発現及び精製に利用した。これらのクローンをスクリーニングし、続いて以下に記載するとおり生化学的にインビボで特性決定した後、ＶＨ配列及びＶＬ配列をさらに最適化して、以下の表７に掲載するとおりのさらなる抗体を生成した。

【０２８７】

実施例３：細胞溶解活性の阻害

１３個の精製抗ＡＴ　ＩｇＧの阻害活性を溶血アッセイで比較した。溶血アッセイにおいて一定量のｎＡＴ及びウサギ赤血球細胞の存在下で精製抗ＡＴ　ｍＡｂを力価測定した。ｍＡｂは、各々、一定量の天然ＡＴ（ｎＡＴ）及びウサギ赤血球細胞（ＲＢＣ）の存在下で約２０μｇ／ｍＬから漸減させて力価を決定した。溶血は、上清中へのヘモグロビン放出により計測した。溶血阻害パーセント（％）は以下のとおり計算した：阻害％＝１００＊［１００－（A_{490} ｎＡＴ＋Ａｂ）／（A_{490} ｎＡＴ　Ａｂ無し）］。１３個の最も強力なｒＡＴ－ｈｉｓ阻害剤を示す代表的な溶血アッセイを、図１Ａ及び図１Ｂに示す。非特異的ＩｇＧ対照（Ｒ３４７）を陰性対照として含めた。

【０２８８】

１３個の精製ｍＡｂのうち７個のみ（ｍＡｂ；２Ａ３．１、１０Ａ７．５、１１Ｄ１２．１、１２Ｂ８．１９、１５Ｂ６．３、２５Ｅ９．１及び２８Ｆ６．１）が、ｎＡＴ媒介性ＲＢＣ溶解を阻害した（図１Ａ及び図１Ｂを参照）。これらの抗体のうち３個（２Ａ３．１、１０Ａ７．５及び１２Ｂ８．１９）が強力な阻害剤であり、１：１（モルＩｇＧ：モルＡＴ）比でｎＡＴ媒介性ＲＢＣ溶解の約８０％の阻害を示した。これらの結果から、生成されたｍＡｂがウサギＲＢＣにおける膜孔形成を阻害し得ることが示唆された。

【０２８９】

ヒト赤血球はＡＴに対する受容体を多くは有しない。結果的に、ヒトＲＢＣはｎＡＴ媒介性溶解に対してウサギＲＢＣほど感受性が高くなく、感染時のＡＴの主要な標的ではないものと思われる。他の細胞型（例えば、上皮、リンパ球、単球及びマクロファージ）は、ブドウ球菌感染時のｎＡＴの効果にとってより関連性が高い標的である。ヒト細胞株Ａ５４９（肺胞上皮細胞株）及びＴＨＰ－１（単球性細胞株）のｎＡＴ媒介性溶解における精製抗体の活性を調べた。モノクローナル抗体（ｍＡｂ）を、Ａ５４９細胞又はＴＨＰ－１細胞のいずれかの存在下で一定値のｎＡＴに対して力価測定した。本明細書に記載されるとおり乳酸デヒドロゲナーゼ（ＬＤＨ）の放出により細胞溶解を定量化し、ＬＤＨ放出の阻害％を決定した。結果をグラフで図２Ａ及び図２Ｂに示す。ウサギＲＢＣ溶解を阻害したｍＡｂは、ヒトＡ５４９細胞及びＴＨＰ－１細胞の双方のｎＡＴ媒介性溶解もまた阻害したが（それぞれ図２Ａ及び図２Ｂを参照）、但し１１Ｄ１２．１は例外で、これはＡ５４９細胞の溶解を阻害したがＴＨＰ－１細胞のｎＡＴ媒介性溶解には効果を有しなかった。これらのｍＡｂが示した強力な抗ＡＴ活性から、感染時にＡＴ活性を阻害し、それによりブドウ球菌に関連する症状及び疾患の進行を抑制するこれらの抗体の潜在的な有用性が明らかとなる。

【０２９０】

実施例４：抗ＡＴ　ｍＡｂによる受動免疫化は皮膚壊死病変を減少させる

黄色ブドウ球菌（Ｓ．ａｕｒｅｕｓ）は、院内及び市中の双方における皮膚軟組織感染（ＳＳＴＩ）の主な原因であり、多くの場合に炎症、組織損傷及び化膿によって特徴付けられる。過度の炎症反応及び組織損傷に至るこれらの感染ではＡＴが役割を果たし得るため、ひいてはＡＴ機能を阻害すれば、重症疾患を引き起こす細菌の能力が抑制され得る。黄色ブドウ球菌（Ｓ．ａｕｒｅｕｓ）感染の効果を最小限に抑え、低減し、又は消失させることにおける抗ＡＴ　ｍＡｂの有用性を決定するため、５匹のマウス群に、７個の阻害性ｍＡｂ（例えば約５ｍｇ／ｋｇ）及びＩｇＧ－１アイソタイプ対照（Ｒ３４７）の対照の各々を腹腔内（ＩＰ）注入し、２４時間後に黄色ブドウ球菌（Ｓ．ａｕｒｅｕｓ）Ｗｏｏｄ株を皮下感染させた。皮膚壊死病変のサイズを６日間毎日計測し、図３Ａに示されるとおり（図３Ａには６日目が示される）写真で記録した。５個の最も強力なインビトロｎＡＴ機能阻害剤（２Ａ３．１、１０Ａ７．５、１２Ｂ８．１９、２５Ｅ９．１及び２８Ｆ

６．１）では、Ｒ３４７対照と比べて病変サイズが実質的に縮小したが、一方、インビトロで最も効力の弱いｍＡｂは（１１Ｄ１２．１、１５Ｂ６．３）、図３Ａ及び図３Ｂに示されるとおり、対照と比べて病変サイズに対して実質的に効果を有しなかった。図３Ｂは、経時的な病変サイズの減少をグラフで示す。２Ａ３．１、１０Ａ７．５、１２Ｂ８．１９、２５Ｅ９．１及び２８Ｆ６．１は、インビトロでのＡＴ機能の強力な阻害剤であり、またＳＳＴＩのマウスモデルにおいて強力な予防効果も示す。皮膚壊死モデルでさらなる抗体ＬＣ１０、ＱＤ２０、ＱＤ３３、及びＱＤ３７もまた試験した。これらのモノクローナル抗体は、上記に記載したとおり、群あたり５匹のマウスに対して１及び０．５ｍｇ／ｋｇで腹腔内に（ＩＰ）注射し、２４時間後に黄色ブドウ球菌（Ｓ．ａｕｒｅｕｓ）Ｗｏｏｄ株を皮下感染させた。結果は図１７Ａ及び図１７Ｂに示す。ｐ値はダネットの事後検定を用いて計算した。１ｍｇ／ｋｇの実験について、試験Ａｂと比較したときのＲ３４７対照のｐ値はｐ＜０．０００１であった。０．５ｍｇ／ｋｇの実験について、試験Ａｂと比較したときのＲ３４７対照のｐ値はｐ＜０．０５であった。

【０２９１】

実施例５：抗ＡＴ　ｍＡｂによる受動免疫化はマウス肺炎における生存を増強する

生成した最も強力な抗ＡＴ　ｍＡｂによる予防をマウス肺炎モデルで試験した。Ｃ５７ＢＬ／６Ｊマウスを約５ｍｇ／ｋｇ、約１５ｍｇ／ｋｇ、及び約４５ｍｇ／ｋｇの２Ａ３．１、１０Ａ７．５、１２Ｂ８．１９又は２８Ｆ６．１で受動免疫し、２４時間後に黄色ブドウ球菌（Ｓ．ａｕｒｅｕｓ）ＵＳＡ３００株（ＢＡＡ－１５５６）を鼻腔内感染させた。次に生存を６日間モニタし、図４～図７に示すとおり４５ｍｇ／ｋｇのアイソタイプ対照（Ｒ３４７）と比較した。ログ・ランク検定を用いて統計的有意性を計算した。図４は、様々な量のｍＡＢ　１２Ｂ．１９による受動免疫化後の黄色ブドウ球菌（Ｓ．ａｕｒｅｕｓ）感染の経過における生存率をグラフで示す。図５は、様々な量のｍＡＢ　２Ａ３．１による受動免疫化後の黄色ブドウ球菌（Ｓ．ａｕｒｅｕｓ）感染の経過における生存率をグラフで示す。図６は、様々な量のｍＡＢ　２８Ｆ６．１による受動免疫化後の黄色ブドウ球菌（Ｓ．ａｕｒｅｕｓ）感染の経過における生存率をグラフで示す。図７は、様々な量のｍＡＢ　１０Ａ７．５による受動免疫化後の黄色ブドウ球菌（Ｓ．ａｕｒｅｕｓ）感染の経過における生存率をグラフで示す。

【０２９２】

示される全ての抗ＡＴ抗体において、対照と比べて有意な生存の向上が生じ、４５ｍｇ／ｋｇ用量で少なくとも９０％の生存につながった（図４～図７を参照のこと）。α毒素は、ブドウ球菌性肺炎における主要なビルレンス決定因子であると考えられている。本明細書に提示される結果は、強力な阻害性ｍＡｂの受動的投与が疾患予防に妥当な手法であることを示している。まとめると、本明細書に提示される動物試験は、ブドウ球菌性疾患におけるＡＴの役割を裏付け、ＡＴ機能を阻害するｍＡｂを使用した疾患の重症度又はさらには黄色ブドウ球菌（Ｓ．ａｕｒｅｕｓ）感染に関連する死亡の抑制に裏付けを提供する。

【０２９３】

感染時における抗ＡＴ　ｍＡｂの細菌数に対する影響をさらに特徴付けるため、完全ヒト型ｍＡｂ　２Ａ３．１（例えば、２Ａ３ｈｕ）をマウスに予防的に送達し、２４時間後に約１．３×10^{8}ｃｆｕの黄色ブドウ球菌（Ｓ．ａｕｒｅｕｓ）ＵＳＡ３００株を鼻腔内感染させた。感染後４８時間でマウスを安楽死させ、その肺及び腎臓を摘出して処理し、細菌を計数した（図８Ａ及び図８Ｂを参照）。感染後４時間及び２４時間でマウスを安楽死させ、試料を採取してサイトカイン産生を計測し（以下に記載する、及び図９を参照のこと）、及び病理組織学的分析を行った（以下に記載する、及び図１０を参照のこと）。ダネットの事後検定を用いてｐ値を計算した。細菌計数の代表的な結果を図８Ａ及び図８Ｂに提供する。２Ａ３ｈｕの予防的投与により、Ｒ３４７対照と比べて肺（図８Ａを参照）及び腎臓（図８Ｂを参照）のいずれにおいても細菌数が有意に減少したことから、ＡＴ機能の阻害によって疾患の進行を抑制し、クリアランスを増進させ、また侵入微生物が全身に広がるのを抑制し得ることが示される。

【０２９４】
さらなる抗体ＬＣ１０、ＱＤ２０、ＱＤ３３、及びＱＤ３７もまた肺炎モデルで試験した。これらのモノクローナル抗体を、群あたり１０匹のマウスにおいて５ｍｇ／ｋｇで腹腔内に（ｉｉｎｔｒａｐｅｒｉｔｏｎｅａｌｌｙ）（ＩＰ）注射し、２４時間後に約２×１０^{8}ｃｆｕの黄色ブドウ球菌（Ｓ．ａｕｒｅｕｓ）ＵＳＡ３００株を鼻腔内（ＩＮ）感染させた。これらの実験の結果を図１８に示す。ダネットの事後検定を用いてｐ値を計算した。２Ａ３　ｍＡｂをＱＤ３７と比較したときのｐ値はｐ＝０．００７２であった；２Ａ３　ｍＡｂをＬＣ１０と比較したときのｐ値はｐ＝０．０５２３であった；２Ａ３　ｍＡｂをＱＤ３３と比較したときのｐ値はｐ＝０．０５２１であった。

【０２９５】
実施例６：肺炎モデルにおけるＡＴの阻害は炎症誘発性サイトカイン産生を減少させる
黄色ブドウ球菌（Ｓ．ａｕｒｅｕｓ）肺炎感染は、典型的には炎症誘発性サイトカインの過剰産生を伴い、これは免疫細胞の活性化及び浸潤の増加を引き起こし、最終的にうっ血及び組織壊死の増加を引き起こすと考えられている（Ｂｕｂｅｃｋ　Ｗａｒｄｅｎｂｕｒｇ，Ｊ．２００７）。黄色ブドウ球菌（Ｓ．ａｕｒｅｕｓ）ＡＴ欠失突然変異体は、マウス肺炎モデルにおいて、そのアイソジェニックな野生型黄色ブドウ球菌（Ｓ．ａｕｒｅｕｓ）と比べてビルレンスの低下を示すことが明らかにされている。さらに、ＡＴに対する能動及び受動免疫化により、既知の急性肺傷害メディエーターであるＩＬ－１βの発現が低下し、マウスの重症肺炎が予防されたことが実証された（Ｂｕｂｅｃｋ　Ｗａｒｄｅｎｂｕｒｇ，Ｊ．２００７；Ｂｕｂｅｃｋ　Ｗａｒｄｅｎｂｕｒｇ，Ｊ．２００８）。これらの結果から、黄色ブドウ球菌（Ｓ．ａｕｒｅｕｓ）感染時にＡＴを阻害することにより、炎症誘発性サイトカインの産生を低下させ、ひいては過剰な細胞浸潤を抑制し、最終的に肺炎の症状を減らし、且つ上記で認められたとおりの細菌クリアランスを増強し得ることが示唆される。

【０２９６】
この仮説を検証するため、マウスを２Ａ３ｈｕで受動免疫し、２４時間後に約１．３×１０^{8}ｃｆｕの黄色ブドウ球菌（Ｓ．ａｕｒｅｕｓ）ＵＳＡ３００株を鼻腔内感染させた。感染後４時間及び２４時間でマウスを安楽死させ、肺の半分を固定してヘマトキシリン及びエオシン染色並びに顕微鏡検査用に調製し、一方で他方の側から気管支肺胞洗浄液を収集して処理し、サイトカイン値を決定した。受動免疫化後のサイトカイン産生の代表的な結果を図９に示す。図１０は、本明細書に記載されるｍＡｂによる受動免疫化の有効性を写真で示す。

【０２９７】
感染４時間後、サイトカイン値はＲ３４７及び２Ａ３ｈｕ処置マウスで同程度であったが、しかしながら図９に示されるとおり、感染後２４時間までに、２Ａ３ｈｕ処置動物ではＩＬ－６、ＴＮＦ－α、ＫＣ及びＩＬ－１βの値が全て低下した（２４時間の時間点における丸で囲んだ結果を参照）。このことから、２Ａ３ｈｕの予防的投与により、対照と比べて検出されるサイトカイン値が低下したことが示される。これらのデータは、肺の組織病理学検査の結果により裏付けられ、ここでＲ３４７処置マウスは顕著な肺炎症、壊死及び肺胞炎を有し、細菌コロニーの存在を伴った（図１０の左上及び左下の画像を参照のこと）。対照的に、２Ａ３ｈｕ処置動物の肺炎症は限定的で、壊死、肺胞炎又は細菌コロニーは認められなかった（図１０の右上及び右下の画像を参照のこと）。肺炎モデルにおける抗ＡＴ　ｍＡｂの防御作用は、局所的な組織損傷を抑制し、且つ細菌クリアランスを促進し得る炎症反応の低下と関連付けられる。

【０２９８】
実施例７：結合動態及び競合
表面プラズモン共鳴（ＳＰＲ）を用いて親和性測定を行い、強力な阻害活性を示したｍＡｂをさらに特徴付けた。精製ＩｇＧを、ラット抗マウスＩｇＧを使用してセンサーに捕捉し、種々の濃度のｎＡＴを有する溶液にチップを曝露した。会合及び解離速度定数を計測し、それらから結合定数を決定した。以下の表に示すとおり、抗体２Ａ３．１、１０Ａ

７．５、２５Ｅ９．１及び１２Ｂ８．１９は、K_D値がそれぞれ６０１、５０４、３３７及び４８５ｐＭで同様の親和性を有し、一方、２８Ｆ６．１は１３ｎＭのK_D値を示した。K_Dはk_{off}／k_{on}として計算した。

IgG	k_{on} (1/Ms) (x e+5)	k_{off} (1/s) (x e-4)	K_D (nM)	Chi^2
2A3.1	13.7	8.21	0.601	0.433
10A7.5	6.92	3.49	0.504	0.345
12B8.19	5.75	2.78	0.485	0.288
25E9.1	6.24	2.1	0.337	0.291
28F6.1	0.67	8.81	13.1	0.906

【０２９９】
ＳＰＲを用いて競合実験もまた行った。その結果から、抗体２Ａ３．１、１０Ａ７．５、２５Ｅ９．１及び１２Ｂ８．１９は同じ又は同様のエピトープと結合する可能性があることが示唆される。
【０３００】
以下にｍＡｂ　ＱＤ２０、ＬＣ１０、ＱＤ３３、ＱＤ３７及び２Ａ３ＧＬについてIC_{50}及びK_d値を示す。

Ab	IC_{50} (μg/ml)	Kd (nM)
QD20	0.16	0.087
LC10	0,12	0.17
QD33	0.09	0.33
QD37	0.17	0.18
2A3GL	0.48	1.44

【０３０１】
IC_{50}は、０．１ｍｇ／ｍｌの黄色ブドウ球菌（Ｓ．ａｕｒｅｕｓ）α毒素によるＲＢＣ溶血アッセイを用いて計算した。
【０３０２】
実施例８：阻害性ｍＡｂはＳＤＳ抵抗性ヘプタマーの形成を阻止する
黄色ブドウ球菌（Ｓ．ａｕｒｅｕｓ）α毒素（ＡＴ）は多段階過程で細胞を溶解すると考えられ、この過程では、分泌された可溶性モノマーＡＴ分子が細胞表面受容体に結合するか、又は細胞膜に非特異的に吸着し、オリゴマー化して細胞表面上のヘプタマーの膜孔

前駆体になり、立体構造の変化を起こして１４本鎖の膜貫通βバレルの形成をもたらし、これが続く標的細胞溶解を媒介する。本明細書に記載されるｍＡｂによる阻害の機構をさらに特徴付けることで、どの段階で阻害性ｍＡｂがＡＴ機能を遮断するかを決定した。これらのｍＡｂが、９６ウェル組織培養プレートに結合したウサギＲＢＣゴーストとのＡＴの結合を阻止する能力を調べた。９６ウェルＥＬＩＳＡプレートをＲＢＣゴーストでコーティングし、２％ＢＳＡでブロックした。次にゴーストを、ｎＡＴ＋／－２０モル過剰の抗ＡＴ　ＩｇＧとインキュベートした。次にｎＡＴの結合をウサギ抗ＡＴ　ＩｇＧで検出し、％結合を計算した；％結合＝１００×［１００－（A_{490}　ｎＡＴ＋ｍＡｂ）／（A_{490}　ｎＡＴ　ｍＡｂ無し）］。２０モル濃度のＩｇＧ過剰では、図１１に示されるとおり、ウサギＲＢＣ膜に対するｎＡＴの結合は阻害されなかったことから、受容体結合の段階においてこれらの阻害性ｍＡｂは作用していなかったことが示される。

【０３０３】

細胞膜に加え、ＡＴ及び他の膜孔形成毒素は、容易に集合してリポソーム膜に孔を形成することが示されている。最初に、抗ＡＴ　ＩｇＧのＡＴヘプタマー形成に対する効果をリポソームで試験した。図１２に示されるとおり、ＩｇＧの存在下でＡＴを１０倍モル過剰のリポソーム（脂質：ＡＴ、ｗｔ：ｗｔ）とインキュベートした後、ウエスタンブロット分析によりヘプタマー形成を調べた。次に試料を３７℃のＳＤＳ－ＰＡＧＥ試料緩衝液に可溶化し、ウエスタンブロット分析によりヘプタマー形成を検出した。ＳＤＳ抵抗性ヘプタマーの存在は、図１２のレーン６及び７（例えば、それぞれｍＡｂ９Ｄ７．３及びＩｇＧ無しの対照レーン）に示されるゲルの上部に容易に認められた。全ての阻害性ｍＡｂでヘプタマー形成がなくなり、一方、関連性のないアイソタイプ対照（例えば、レーン６；９Ｄ７．３）は効果を有しなかった。図１３Ａ及び図１３Ｂに示される代表的なウエスタンブロットに示されるとおり、ウサギＲＢＣゴーストに対するオリゴマー形成アッセイにおいてｍＡｂ　２Ａ３．１、１０Ａ７．５及び１２Ｂ８．１９を使用してオリゴマー形成活性の阻害を確認した。ＡＴを漸変量のＩｇＧとインキュベートした後、ウサギ赤血球ゴーストとインキュベートし、ＳＤＳ－ＰＡＧＥによってヘプタマー形成を検出した。ｍＡｂ　２Ａ３．１、１０Ａ７．５及び１２Ｂ８．１９は、１：１のＩｇＧ：毒素の比（モル：モル）であってもＡＴヘプタマー形成を有効に阻害し、ｍＡｂレベルの低下に伴うオリゴマー形成阻害効果を力価測定した（図１３Ａ及び図１３Ｂを参照；０．５：１及び０．２５：１のモル比でヘプタマーが出現）。これらの結果から、ｍＡｂ　２Ａ３．１、１０Ａ７．５及び１２Ｂ８．１９がＳＤＳ抵抗性ヘプタマー形成を阻害することによってＡＴ媒介性細胞溶解を阻止することが示唆される。

【０３０４】

実施例９：完全ヒトＩｇＧへの転換

完全ヒトＩｇＧは、ヒトＩｇＧ－１の定常ドメインと遺伝的に融合した、本明細書に記載されるキメラｍＡｂ由来の重鎖可変ドメイン（V_H）及び軽鎖可変ドメイン（V_L）を含む。キメラｍＡｂの各々に由来するV_H及びV_Lをクローニングし、配列決定して、それぞれヒトＩｇＧ－１　V_Hドメイン及びヒトκ定常ドメインと融合した。得られた完全ヒトＩｇＧ－１は、関与するヒト可変領域及び目的のｍＡｂの結合特性を維持していることが示された。完全ヒト抗体を発現させ、精製し、その活性をＶｅｌｏｃＩｍｍｕｎｅマウスハイブリドーマから単離したキメラｍＡｂと比較した。完全ヒトｍＡｂは、ＲＢＣ、Ａ５４９及びＴＨＰ－１細胞溶解の阻害において元のキメラと同程度の力価を示し、但し２５Ｅ９．１ｈｕは例外で、これは元の２５Ｅ９．１キメラと比べて実質的により強力になった。図１４～図１６は、赤血球細胞（ＲＢＣ；図１４を参照のこと）、Ａ５４９細胞（図１５を参照のこと）及びＴＨＰ－１細胞（図１６を参照のこと）における、細胞溶解に特徴的なＬＤＨ放出の阻害をグラフで示す。ヒト２５Ｅ９．１　ｍＡｂ（例えば、２５Ｅ９．１ｈｕ）の力価の増加は、２つの別個の抗ＡＴ　ＩｇＧ分子を含んだ元のハイブリドーマにおける混合細胞集団から生じたものであってよく、そのうち一方のみが、ｎＡＴ機能を阻害した活性を有した可能性がある。従って、元のキメラｍＡｂのモル濃度計算及び活性計測は、直接的な相関を有しないこともあり得る。

【０３０５】
実施例１０：黄色ブドウ球菌（Ｓ．ａｕｒｅｕｓ）α毒素に特異的に結合する抗体の代表的なアミノ酸及びヌクレオチド配列
【０３０６】
【表１】

表 1: mAb 2A3.1、10A7.5、12B8.19 及び 25E9.1 の VL CDR 配列

配列番号	説明	配列
配列番号 1	VL CDR1	RASQSISSWLA
配列番号 2	VL CDR2	KASSLES
配列番号 3	VL CDR3	QQYNSYWT

【０３０７】
【表２】

表 2: mAB 28F6.1 の VL CDR 配列

配列番号	説明	配列
配列番号 4	mAb 28F6.1 VL CDR1	RASQGIRNDLG
配列番号 5	mAb 28F6.1 VL CDR2	DASSLQS
配列番号 6	mAb 28F6.1 VL CDR3	LQDYNYPWT

【０３０８】
【表３】

表 3: mAb 2A3.1 の VH CDR 配列

配列番号	説明	配列
配列番号 7	VH CDR1	SYDMH
配列番号 8	VH CDR2	GIGTAGDTYYPGSVKG
配列番号 9	VH CDR3	DNYSSTGGYYGMDV

【０３０９】

【表４】

表 4: mAb 10A7.5 及び 12B8.19 の VH CDR 配列

配列番号	説明	配列
配列番号 10	VH CDR1	RYDMH
配列番号 11	VH CDR2	VIGTDGDTYYPGSVKG
配列番号 12	VH CDR3	DRYSSSNHYNGMDV

【０３１０】

【表５】

表 5: mAb 28F6.1 の VH CDR 配列

配列番号	説明	配列
配列番号 13	mAb 28F6.1 VH CDR1	SYAMT
配列番号 14	mAb 28F6.1 VH CDR2	VISGSGGSTYYADSVKG
配列番号 15	mAb 28F6.1 VH CDR3	DGRQVEDYYYYYGMDV

【０３１１】

【表６】

表 6: mAb 25E9.1 の VH CDR 配列

配列番号	説明	配列
配列番号 7	mAb 25E9.1 VH CDR1	SYDMH
配列番号 17	mAb 25E9.1 VH CDR2	VIDTAGDTYYPGSVKG
配列番号 18	mAb 25E9.1 VH CDR3	DRYSGNFHYNGMDV

【０３１２】

【表７】

表 7: 抗 α 毒素 mAb の VL 及び VH アミノ酸配列

説明	VH 又は VL 配列 (CDR には下線を引いている)	CDR1	CDR2	CDR3
mAb 2A3.1 VL	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRAS QSISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYKAS SLESGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSL QPDDFATYYCQQYNSYWTFGQGTK VEIK (配列番号 19)	RASQSISSW LA (配列番号 1)	KASSLES (配列番号 2)	QQYNSYWT (配列番号 3)
mAb 2A3.1 VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS GFTFSSYDMHWVRQATGKGLEWVS GIGTAGDTYYPGSVKGRFTISRENAK NSLYLQLNSLRAGDTAVYFCARDNY SSTGGYYGMDVWGQGTTVTVSS (配列番号 20)	SYDMH (配列番号 7)	GIGTAGDTY YPGSVKG (配列番号 8)	DNYSSTGGY YGMDV (配列番号 9)
mAb 10A7.5 VL	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRAS QSISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYKAS SLESGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSL QPDDFATYYCQQYNSYWTFGQGTK VEIK (配列番号 21)	RASQSISSW LA (配列番号 1)	KASSLES (配列番号 2)	QQYNSYWT (配列番号 3)
mAb 10A7.5 VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS GFTFSRYDMHWVRQATGKGLEWVS VIGTDGDTYYPGSVKGRFIISRENAK NSLYLEMNSLRAGDTAVYYCARDRY SSSNHYNGMDVWGQGTTVTVSS (配列番号 22)	RYDMH (配列番号 10)	VIGTDGDTY YPGSVKG (配列番号 11)	DRYSSSNHY NGMDV (配列番号 12)
mAb 12B8.19 VL	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRAS QSISSWLAWYQQKPGKAPKVLIYKA SSLESGVPSRFSGSGSGTEFTLTISS LQPDDFATYYCQQYNSYWTFGQGT KVEIK (配列番号 23)	RASQSISSW LA (配列番号 1)	KASSLES (配列番号 2)	QQYNSYWT (配列番号 3)
mAb 12B8.19 VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS GFTFSRYDMHWVRQATGKGLEWVS VIGTDGDTYYPGSVKGRFIISRENAK NSLYLEMNSLRAGDTAVYYCARDRY SSSNHYNGMDVWGQGTTVTVSS (配列番号 24)	RYDMH (配列番号 10)	VIGTDGDTY YPGSVKG (配列番号 11)	DRYSSSNHY NGMDV (配列番号 12)

説明	VH 又は VL 配列 (CDR には下線を引いている)	CDR1	CDR2	CDR3
mAb 28F6.1 VL	AIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIRNDLGWYQQKPGKAPKLLIYDASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCLQDYNYPWTFGQGTKVEIK (配列番号 25)	RASQGIRNDLG (配列番号 4)	DASSLQS (配列番号 5)	LQDYNYPWT (配列番号 6)
mAb 28F6.1 VH	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMTWVRQAPGKGLEWVSVISGSGGSTYYADSVKGRFTVSRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDGRQVEDYYYYYGMDVWGQGTTVTVSS (配列番号 26)	SYAMT (配列番号 13)	VISGSGGSTYYADSVKG (配列番号 14)	DGRQVEDYYYYYGMDV (配列番号 15)
mAb 25E9.1 VL	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRASQSISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYKASSLESGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPDDFATYYCQQYNSYWTFGQGTKVEIK (配列番号 27)	RASQSISSWLA (配列番号 1)	KASSLES (配列番号 2)	QQYNSYWT (配列番号 3)
mAb 25E9.1 VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTASGFTFSSYDMHWVRQATGKGLEWVSVIDTAGDTYYPGSVKGRFTISRENAKNSLYLQMNSLRAGDTAVYYCVRDRYSGNFHYNGMDVWGQGTTVTVSS (配列番号 28)	SYDMH (配列番号 7)	VIDTAGDTYYPGSVKG (配列番号 17)	DRYSGNFHYNGMDV (配列番号 18)
mAb QD20 VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYDMHWVRQATGKGLEWVSGIGTAGDTYYPGSVKGRFTISRENAKNSLYLQMNSLRAGDTAVYYCARDRYSPTGHYMGMDVWGQGTTVTVSS (配列番号 41)	SYDMH (配列番号 7)	GIGTAGDTYYPGSVKG (配列番号 8)	DRYSPTGHYMGMDV (配列番号 16)

説明	VH 又は VL 配列 (CDR には下線を引いている)	CDR1	CDR2	CDR3
mAb QD20 VL	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRAS QSISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYKAS SLESGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSL QPDDFATYYCQQYDTYWTFGQGTK VEIK (配列番号 42)	RASQSISSW LA (配列番号 1)	KASSLES (配列番号 2)	QQYDTYWT (配列番号 64)
mAb QD33 VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS GFTFSSYDMHWVRQATGKGLEWVS GIGTAGDTYYPGSVKGRFTISRENAK NSLYLQMNSLRAGDTAVYYCARDRY SRTGHYMGMDVWGQGTTVTVSS (配列番号 43)	SYDMH (配列番号 7)	GIGTAGDTY YPGSVKG (配列番号 8)	DRYSRTGHY MGMDV (配列番号 65)
mAb QD33 VL	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRAS QSISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYKAS SLESGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSL QPDDFATYYCQQYDTYWTFGQGTK VEIK (配列番号 44)	RASQSISSW LA (配列番号 1)	KASSLES (配列番号 2)	QQYDTYWT (配列番号 64)
mAb QD37 VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS GFTFSSYDMHWVRQATGKGLEWVS GIGTAGDTYYPGSVKGRFTISRENAK NSLYLQMNSLRAGDTAVYYCARDRY SRTGHYMGMSLWGQGTTVTVSS (配列番号 45)	SYDMH (配列番号 7)	GIGTAGDTY YPGSVKG (配列番号 8)	DRYSRTGHY MGMSL (配列番号 66)
mAb QD37 VL	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRAS QSISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYKAS SLESGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSL QPDDFATYYCQQYDTYWTFGQGTK VEIK (配列番号 46)	RASQSISSW LA (配列番号 1)	KASSLES (配列番号 2)	QQYDTYWT (配列番号 64)
mAb QD3 VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS GFTFSSYDMHWVRQATGKGLEWVS GIGTAGDTYYPGSVKGRFTISRENAK NSLYLQMNSLRAGDTAVYYCARDNY SRTGHYMGMDVWGQGTTVTVSS (配列番号 47)	SYDMH (配列番号 7)	GIGTAGDTY YPGSVKG (配列番号 8)	DNYSRTGHY MGMDV (配列番号 67)

説明	VH 又は VL 配列 (CDR には下線を引いている)	CDR1	CDR2	CDR3
mAb QD3 VL	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRAS QSISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYKAS SLESGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSL QPDDFATYYCKQYADYWTFGQGTK VEIK (配列番号 48)	RASQSISSW LA (配列番号 1)	KASSLES (配列番号 2)	KQYADYWT (配列番号 68)
mAb QD4 VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS GFTFSSYDMHWVRQATGKGLEWVS GIGTAGDTYYPGSVKGRFTISRENAK NSLYLQMNSLRAGDTAVYYCARDNY SRTGHYMGMDVWGQGTTVTVSS (配列番号 49)	SYDMH (配列番号 7)	GIGTAGDTY YPGSVKG (配列番号 8)	DNYSRTGHY MGMDV (配列番号 67)
mAb QD4 VL	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRAS QSISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYKAS SLESGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSL QPDDFATYYCQQYDTYWTFGQGTK VEIK (配列番号 50)	RASQSISSW LA (配列番号 1)	KASSLES (配列番号 2)	QQYDTYWT (配列番号 64)
mAb QD23 VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS GFTFSSYDMHWVRQATGKGLEWVS GIGTAGDTYYPGSVKGRFTISRENAK NSLYLQMNSLRAGDTAVYYCARDRY SPTGHYMGMSLWGQGTTVTVSS (配列番号 51)	SYDMH (配列番号 7)	GIGTAGDTY YPGSVKG (配列番号 8)	DRYSPTGHY MGMSL (配列番号 78)
mAb QD23 VL	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRAS QSISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYKAS SLESGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSL QPDDFATYYCQQYDTYWTFGQGTK VEIK (配列番号 52)	RASQSISSW LA (配列番号 1)	KASSLES (配列番号 2)	QQYDTYWT (配列番号 64)
mAb QD32 VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS GFTFSSYDMHWVRQATGKGLEWVS GIGTAGDTYYPGSVKGRFTISRENAK NSLYLQMNSLRAGDTAVYYCARDRY SRTGHYMGMDVWGQGTTVTVSS (配列番号 53)	SYDMH (配列番号 7)	GIGTAGDTY YPGSVKG (配列番号 8)	DRYSRTGHY MGMDV NO:65)

説明	VH 又は VL 配列 (CDR には下線を引いている)	CDR1	CDR2	CDR3
mAb QD32 VL	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRAS QSISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYKAS SLESGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSL QPDDFATYYCKQYADYWTFGQGTK VEIK (配列番号 54)	RASQSISSW LA (配列番号 1)	KASSLES (配列番号 2)	KQYADYWT (配列番号 68)
mAb 2A3GL VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS GFTFSSYDMHWVRQATGKGLEWVS GIGTAGDTYYPGSVKGRFTISRENAK NSLYLQMNSLRAGDTAVYYCARDNY SSTGGYYGMDVWGQGTTVTVSS (配列番号 55)	SYDMH (配列番号 7)	GIGTAGDTY YPGSVKG (配列番号 8)	DNYSSTGGY YGMDV (配列番号 9)
mAb 2A3GL VL	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRAS QSISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYKAS SLESGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSL QPDDFATYYCQQYNSYWTFGQGTK VEIK (配列番号 56)	RASQSISSW LA (配列番号 1)	KASSLES (配列番号 2)	QQYNSYWT (配列番号 3)
mAb LC10 VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS GFTFSSHDMHWVRQATGKGLEWVS GIGTAGDTYYPDSVKGRFTISRENAK NSLYLQMNSLRAGDTAVYYCARDRY SPTGHYYGMDVWGQGTTVTVSS (配列番号 57)	SHDMH (配列番号 69)	GIGTAGDTY YPDSVKG (配列番号 70)	DRYSPTGHY YGMDV (配列番号 71)
mAb LC10 VL	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRAS QSISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYKAS SLESGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSL QPDDFATYYCKQYADYWTFGQGTK VEIK (配列番号 58)	RASQSISSW LA (配列番号 1)	KASSLES (配列番号 2)	KQYADYWT (配列番号 68)
mAb TVES VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS GFTFSSYDMHWVRQATGKGLEWVS GIGTAGDTYYPGSVKGRFTISRENAK NSLYLQMNSLRAGDTAVYYCARDNY SPTGGYYGMDVWGQGTTVTVSS (配列番号 59)	SYDMH (配列番号 7)	GIGTAGDTY YPGSVKG (配列番号 8)	DNYSPTGGY YGMDV (配列番号 72)

説明	VH 又は VL 配列 (CDR には下線を引いている)	CDR1	CDR2	CDR3
mAb TVES VL	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRAS QSISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYKAS SLKSGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSL QPDDFATYYCQQYESYWTFGQGTK VEIK (配列番号 60)	RASQSISSW LA (配列番号 1)	KASSLKS (配列番号 73)	QQYESYWT (配列番号 74)
mAb 3H7KAD VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS GFTFSSHDMHWVRQATGKGLEWVS GIGTRGDTYYPDSVKGRFTISRENAK NSLYLQMNSLRAGDTAVYYCARDRY SPTGHYYGMDVWGQGTTVTVSS (配列番号 61)	SHDMH (配列番号 69)	GIGTRGDTY YPDSVKG (配列番号 75)	DRYSPTGHY YGMDV (配列番号 71)
mAb 3H7KAD VL	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRAS QSISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYKAS SLESGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSL QPDDFATYYCKQYADYWTFGQGTK VEIK (配列番号 58)	RASQSISSW LA (配列番号 1)	KASSLES (配列番号 2)	KQYADYWT (配列番号 68)
mAb LC9 VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS GFTFSSHDMHWVRQATGKGLEWVS GIGTRGDTYYPDSVKGRFTISRENAK NSLYLQMNSLRAGDTAVYYCARDKY SPTGHYYGMDVWGQGTTVTVSS (配列番号 62)	SHDMH (配列番号 69)	GIGTRGDTY YPDSVKG (配列番号 75)	DKYSPTGHY YGMDV (配列番号 76)
mAb LC9 VL	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRAS QSISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYKAS SLESGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSL QPDDFATYYCKQYADYWTFGQGTK VEIK (配列番号 58)	RASQSISSW LA (配列番号 1)	KASSLES (配列番号 2)	KQYADYWT (配列番号 68)
mAb LC4 VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS GFTFSSHDMHWVRQATGKGLEWVS GIGTRGDTYYPDSVKGRFTISRENAK NSLYLQMNSLRAGDTAVYYCARDKY SPTGHYYGMDVWGQGTTVTVSS (配列番号 62)	SHDMH (配列番号 69)	GIGTRGDTY YPDSVKG (配列番号 75)	DKYSPTGHY YGMDV (配列番号 76)

説明	VH 又は VL 配列 (CDR には下線を引いている)	CDR1	CDR2	CDR3
mAb LC4 VL	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRAS QSISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYKAS SLVKGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSL QPDDFATYYCQQYESYWTFGQGTK VEIK (配列番号 63)	RASQSISSW LA (配列番号 1)	KASSLVK (配列番号 77)	QQYESYWT (配列番号 74)
mAb LC5 VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS GFTFSSHDMHWVRQATGKGLEWVS GIGTAGDTYYPDSVKGRFTISRENAK NSLYLQMNSLRAGDTAVYYCARDRY SPTGHYYGMDVWGQGTTVTVSS (配列番号 79)	SHDMH (配列番号 69)	GIGTAGDTY YPDSVKG (配列番号 70)	DRYSPTGHY YGMDV (配列番号 71)
mAb LC5 VL	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRAS QSISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYKAS SLVKGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSL QPDDFATYYCQQYESYWTFGQGTK VEIK (配列番号 63)	RASQSISSW LA (配列番号 1)	KASSLVK (配列番号 77)	QQYESYWT (配列番号 74)

【０３１３】
【表８】

表 8: 抗 α 毒素 mAb の VL 及び VH ヌクレオチド配列

配列番号	説明	配列
配列番号 29	mAb 2A3.1 VL ヌクレオチド配列	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCTTCCA CCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGT CACCATCACTTGCCGGGCCAGTCAGAGT ATTAGTAGCTGGTTGGCCTGGTATCAGC AGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAACTCCT GATCTATAAGGCGTCTAGTTTAGAAAGT GGGGTCCCATCAAGGTTCAGCGGCAGT GGATCTGGGACAGAATTCACTCTCACCA TCAGCAGCCTGCAGCCTGATGATTTTGC AACTTATTACTGCCAACAGTATAATAGTT ATTGGACGTTCGGCCAAGGGACCAAGG TGGAAATCAAA

配列番号	説明	配列
配列番号 30	mAb 2A3.1 VH ヌクレオチド配列	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGA GGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTG AGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCA CCTTCAGTAGCTACGACATGCACTGGGT CCGCCAAGCTACAGGAAAAGGTCTGGA GTGGGTCTCAGGTATTGGCACTGCTGGT GACACATATTATCCAGGCTCCGTGAAGG GCCGATTCACCATCTCCAGAGAAAATGC CAAGAACTCCTTGTATCTTCAATTGAACA GCCTGAGAGCCGGGGACACGGCTGTGT ACTTCTGTGCAAGAGACAATTATAGCAG CACCGGGGGGTACTACGGTATGGACGT CTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGT CTCCTCA
配列番号 31	mAb 10A7.5 VL ヌクレオチド配列	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCTTCCA CCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGT CACCATCACTTGCCGGGCCAGTCAGAGT ATTAGTAGCTGGTTGGCCTGGTATCAGC AGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAACTCCT GATCTATAAGGCGTCTAGTTTAGAAAGT GGGGTCCCATCAAGGTTCAGCGGCAGT GGATCTGGGACAGAATTCACTCTCACCA TCAGCAGCCTGCAGCCTGATGATTTTGC AACTTATTACTGCCAACAGTATAATAGTT ATTGGACGTTCGGCCAAGGGACCAAGG TGGAAATCAAA
配列番号 32	mAb 10A7.5 VH ヌクレオチド配列	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGA GGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTG AGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCA CCTTCAGTAGGTACGACATGCACTGGGT CCGCCAAGCTACAGGAAAAGGTCTGGA GTGGGTCTCAGTTATTGGTACTGATGGT GACACATACTATCCAGGCTCCGTGAAGG GCCGATTCATCATCTCCAGAGAAAATGC CAAGAACTCCTTGTATCTTGAAATGAACA GCCTGAGAGCCGGGGACACGGCTGTGT ATTACTGTGCAAGAGATCGGTATAGCAG CTCGAACCACTACAACGGTATGGACGTC TGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGTC TCCTCA

配列番号	説明	配列
配列番号 33	mAb 12B8.19 VL ヌクレオチド配列	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCTTCCA CCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGT CACCATCACTTGCCGGGCCAGTCAGAGT ATTAGTAGCTGGTTGGCCTGGTATCAGC AGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGGTCCT GATCTATAAGGCGTCTAGTTTAGAAAGT GGGGTCCCATCAAGGTTCAGCGGCAGT GGATCTGGGACAGAATTCACTCTCACCA TCAGCAGCCTGCAGCCTGATGATTTTGC AACTTATTACTGCCAACAGTATAATAGTT ATTGGACGTTCGGCCAAGGGACCAAGG TGGAAATCAAA
配列番号 34	mAb 12B8.19 VH ヌクレオチド配列	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGA GGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTG AGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCA CCTTCAGTAGGTACGACATGCACTGGGT CCGCCAAGCTACAGGAAAAGGTCTGGA GTGGGTCTCAGTTATTGGTACTGATGGT GACACATACTATCCAGGCTCCGTGAAGG GCCGATTCATCATCTCCAGAGAAAATGC CAAGAACTCCTTGTATCTTGAAATGAACA GCCTGAGAGCCGGGGACACGGCTGTGT ATTACTGTGCAAGAGATCGGTATAGCAG CTCGAACCACTACAACGGTATGGACGTC TGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGTC TCCTCA
配列番号 35	mAb 28F6.1 VL ヌクレオチド配列	GCCATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCT CCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGT CACCATCACTTGCCGGGCAAGTCAGGG CATTAGAAATGATTTAGGCTGGTATCAG CAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCC TGATCTATGATGCATCCAGTTTACAAAGT GGGGTCCCATCAAGGTTCAGCGGCAGT GGATCTGGCACAGATTTCACTCTCACCA TCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATTTTGC AACTTATTACTGTCTACAAGATTACAATT ACCCGTGGACGTTCGGCCAAGGGACCA AGGTGGAAATCAAA

配列番号	説明	配列
配列番号 36	mAb 28F6.1 VH ヌクレオチド配列	GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGA GGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTG AGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCA CCTTTAGCAGCTATGCCATGACCTGGGT CCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGA ATGGGTCTCAGTTATTAGTGGTAGTGGT GGTAGCACATACTACGCAGACTCCGTGA AGGGCCGGTTCACCGTCTCCAGAGACA ATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAAT GAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGC CGTATATTACTGTGCGAAAGATGGGAGG CAGGTCGAGGATTACTACTACTACTACG GTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCA CGGTCACCGTCTCCTCA
配列番号 37	mAb 25E9.1 VL ヌクレオチド配列	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCTTCCA CCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGT CACCATCACTTGCCGGGCCAGTCAGAGT ATTAGTAGCTGGTTGGCCTGGTATCAGC AGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCCT GATCTATAAGGCGTCTAGTTTAGAAAGT GGGGTCCCATCAAGGTTCAGCGGCAGT GGATCTGGGACAGAATTCACTCTCACCA TCAGCAGCCTGCAGCCTGATGATTTTGC AACTTATTACTGCCAACAGTATAATAGTT ATTGGACGTTCGGCCAAGGGACCAAGG TGGAAATCAAA
配列番号 38	mAb 25E9.1 VH ヌクレオチド配列	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGA GGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTG AGACTCTCCTGTACAGCCTCTGGATTCA CCTTCAGTAGTTACGACATGCACTGGGT CCGCCAAGCTACAGGAAAAGGTCTGGA GTGGGTCTCAGTTATTGATACTGCTGGT GACACATACTATCCAGGCTCCGTGAAGG GCCGATTCACCATCTCCAGAGAAAATGC CAAGAACTCCTTGTATCTTCAAATGAACA GCCTGAGAGCCGGGGACACGGCTGTGT ATTACTGTGTAAGAGATAGGTATAGTGG GAACTTCCACTACAACGGTATGGACGTC TGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGTC TCCTCA

【０３１４】

【表９】

表 9: VL 及び VH CDR 要約表

説明	配列番号
VL CDR 1	1, 4
VL CDR 2	2, 5, 73, 77
VL CDR 3	3, 6, 64, 68, 74
VH CDR 1	7, 10, 13, 69
VH CDR 2	8, 11, 14, 17, 70, 75
VH CDR 3	9, 12, 15, 18, 16, 65, 66, 67, 71, 72, 76, 78

【０３１５】
【表１０】

表 10: α 毒素アミノ酸配列

黄色ブドウ球菌 (Staphylococcus aureus) α 毒素	adsdiniktgttdigsnttvktgdlvtydkengmhkkvfysfiddknhnkkllvirtkgtiagqyrvyseeganksglawpsafkvqlqlpdnevaqisdyyprnsidtkeymstltygfngnvtgddtgkiggliganvsightlkyvqpdfktilesptdkkvgwkvifnnmvnqnwgpydrdswnpvygnqlfmktrngsmkaadnfldpnkasslssgfspdfatvitmdrkaskqqtnidviyervrddyqlhwtstnwkgtntkdkwtdrsserykidwekeemtn (配列番号 39)
黄色ブドウ球菌 (S.aureus) α 毒素 H35L 突然変異体	adsdiniktgttdigsnttvktgdlvtydkengmlkkvfysfiddknhnkkllvirtkgtiagqyrvyseegansglawpsafkvqlqlpdnevaqisdyyprnsidtkeymstltygfngnvtgddtgkiggliganvsightlkyvqpdfktilesptdkkvgwkvifnnmvnqnwgpydrdswnpvygnqlfmktrngsmkaadnfldpnkasslssgfspdfatvitmdrkaskqqtnidviyervrddyqlhwtstnwkgtntkdkwtdrsserykidwekeemtn (配列番号 40)

【０３１６】
実施例１１：抗ブドウ球菌α毒素抗体結合領域のマッピング
α毒素及びＬｕｋＦ－ＰＶの部分から構成されるキメラ変異体を構築して、Ｆｃ変異体を含むｍＡｂ　ＬＣ１０に対応する抗体（ＬＣ１０　ＹＴＥ）が結合するα毒素の断片を同定した。ＬｕｋＦ－ＰＶはＬＣ１０　ＹＴＥによって認識されないが（図１９）、高い構造的類似性（Ｇｏｕａｕｘ，Ｅ．，Ｍ．Ｈｏｂａｕｇｈ，ｅｔ　ａｌ．“ａｌｐｈａ－Ｈｅｍｏｌｙｓｉｎ，ｇａｍｍａ－ｈｅｍｏｌｙｓｉｎ，ａｎｄ　ｌｅｕｋｏｃｉｄｉｎ　ｆｒｏｍ　Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ａｕｒｅｕｓ：ｄｉｓｔａｎｔ　ｉｎ　ｓｅｑｕｅｎｃｅ　ｂｕｔ　ｓｉｍｉｌａｒ　ｉｎ　ｓｔｒｕｃｔｕｒｅ（黄色ブドウ球菌由来のα溶血素、γ溶血素、及びロイコシジン：配列は遠いが構造は同様である）”Ｐｒｏｔｅｉｎ　Ｓｃｉ　６（１２）：２６３１－５（１９９７）；Ｍｅｅｓｔｅｒｓ，Ｃ．，Ａ．Ｂｒａｃｋ，ｅｔ　ａｌ．“Ｓｔｒｕｃｔｕｒａｌ　ｃｈａｒａｃｔｅｒｉｚａｔｉｏｎ　ｏｆ　ｔｈｅ　ａｌｐｈａ－ｈｅｍｏｌｙｓｉｎ　ｍｏｎｏｍｅｒ　ｆｒｏｍ　Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ａｕｒｅｕｓ（黄色ブドウ球菌由来のα溶血素モノマーの構造的特徴付け）”Ｐｒｏｔｅｉｎｓ　７５（１）：１１８－２６（２００９））及びα毒素と２５％の配列同一性を共有するため（図２０）、キメラパートナーとしてＬｕｋＦ－ＰＶを選択した。５０個のα毒素アミノ酸（ａａ）をその対応するＬｕｋＦ－ＰＶ対

応物と系統的に置換することにより、一系列のキメラ変異体を構築した。目的の選択５０ａａセグメント内にあるより短い領域もまた置換した（表１１）。ＰｒｏｔｅＯｎ機器を用いてこれらの変異体に対するＬＣ１０　ＹＴＥの結合親和性を分析した。変異体に対するＬＣ１０　ＹＴＥの結合結果を表１１に要約する。

【０３１７】

【表１１】

表 11: α 毒素/LukF-PV キメラ変異体に対する LC10 YTE の結合プロファイル

キメラ変異体	LukF-PV 対応物により置換された α 毒素の領域	抗 α 毒素ポリクローナル抗体によりモニタされる発現レベル	MEDI4893 の結合親和性
α 毒素	N/A	良好*	約 100pM
LukF-PV	N/A	N/A	結合なし
KO_1-51	aa 1-51	低い**	約 100pM
KO_52-110	aa 52-110	低い	結合なし
KO_111-147	aa 111-147	良好	約 100pM
KO_148-205	aa 148-205	良好	約 100pM
KO_204-241	aa 204-241	低い	結合なし
KO_248-293	aa 248-293	低い	結合なし
KO_52-62	aa 52-62	良好	約 100pM
KO_63-72	aa 63-72	良好	約 100pM
KO_73-81	aa 73-81	発現なし	N/A
KO_82-90	aa 82-90	良好	約 100pM
KO_91-100	aa 91-100	良好	約 100pM
KO_101-110	aa 101-110	良好	結合なし
KO_204-231	aa 204-231	良好	結合なし
KO_204-213	aa 204-213	良好	約 100pM
KO_214-223	aa 214-223	良好	約 100pM
KO_224-231	aa 224-231	良好	結合なし
KO_232-247	aa 232-247	良好	約 100pM
KO_248-277	aa 248-277	良好	約 1100pM (KD は 10 倍降下)
KO_278-293	aa 278-293	良好	約 100pM

* 50nMにおける抗α毒素ポリの結合シグナルが100RUを上回った。** 50nMにおける抗α毒素ポリの結合シグナルが100RU未満であった。

【０３１８】

ＫＯ＿７３－８１を除いては、全てのキメラコンストラクトを何らかのレベルで発現させることができた（表１１）。ＬＣ１０　ＹＴＥは、α毒素のａａ１０１～１１０（ＫＯ＿５２－１１０及びＫＯ＿１０１－１１０）又はａａ２２４～２３１（ＫＯ＿２０４－２４１、ＫＯ＿２０４－２３１及びＫＯ＿２２４－２３１）の代わりにＬｕｋＦ－ＰＶをコードする変異体に結合しなかった。ａａ２４８～２７７（ＫＯ＿２４８－２７７）又はそのより大きいセグメントａａ２４８～２９３（ＫＯ＿２４８－２９３）を置き換えると、ＬＣ１０　ＹＴＥの結合はそれぞれ著しく損なわれるか、又は完全に妨げられた。

【０３１９】

場合によっては、ＬＣ１０　ＹＴＥとの結合性の明らかな欠如は、誤ったフォールディングを示す個々のα毒素／ＬｕｋＦ－ＰＶ変異体により説明することができる。全体的に

正しいフォールディング能力を欠くことはまた、ＫＯ　７３－８１の発現の明らかな欠如の説明ともなり得る。加えて、α毒素とＬｕｋＦ－ＰＶとの間のアミノ酸配列相同性は、実質的に領域毎に異なる。例えば、α毒素のａａ１７９～１９３に対応するセグメントは、ＬｕｋＦ－ＰＶと６７％の同一性を共有するが、配列全体は２５％の同一性を共有する。従って、高い配列相同性の領域を取り換えたときにＬＣ１０　ＹＴＥ結合に影響は認められなかったが、これらの領域は、ＬＣ１０　ＹＴＥ抗体が結合する別の配列を潜在的に含み得た。

【０３２０】

上記の突然変異誘発分析の結果は、α毒素の３つの領域ａａ１０１～１１０、ａａ２２４～２３１、及び２４８～２９３のいずれかをＬｕｋＦ－ＰＶ残基に置換すると、ＬＣ１０　ＹＴＥ結合性が損なわれたが、その他のアミノ酸領域を置換しても有意な影響はなかったことを示している。

【０３２１】

これらの３つの領域は、α毒素の三次元構造における２つの異なる位置に相当する。ａａ１０１～１１０及び２２４～２３１に対応するセグメントは空間的に近接しており、β－サンドイッチドメインの片側に局在するが、一方、ａａ２４８～２７７に対応するセグメントは、主に「Ｒｉｍ」ドメインに局在する（Ｓｏｎｇ，Ｌ．，Ｍ．Ｒ．Ｈｏｂａｕｇｈ，ｅｔ　ａｌ．，“Ｓｔｒｕｃｔｕｒｅ　ｏｆ　ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃａｌ　ａｌｐｈａ－ｈｅｍｏｌｙｓｉｎ，ａ　ｈｅｐｔａｍｅｒｉｃ　ｔｒａｎｓｍｅｍｂｒａｎｅ　ｐｏｒｅ（ブドウ球菌α溶血素、ヘプタマー膜貫通孔の構造）”Ｓｃｉｅｎｃｅ　２７４（５２９４）：１８５９－６６（１９９６））（図２１）。

【０３２２】

ａａ２４８～２７７に対応するセグメントは結合に影響を及ぼすことが示され、またａａ２６１～２７２を含むものとして同定されるＸ線構造接触残基も含んだ（ここではＴ２６３、Ｎ２６４、及びＫ２６６が実際の接触残基である）（図２０）。加えて、結晶構造から、ａａ１７３～２０１に対応する別のセグメントが明らかとなった。このセグメントでは、Ｄ１８３、Ｗ１８７、及びＮ１８８が実際の接触残基である（図２０）。この特定のセグメントを含んだキメラ変異体（ＫＯ＿１４８－２０５）は、なおＬＣ１０　ＹＴＥとの良好な結合性を示した。これは、α毒素とＬｕｋＦ－ＰＶとの間におけるこの特定の領域の高い配列相同性（５２％の同一性及び６３％の類似性）に起因する可能性がある。接触残基の周りのアミノ酸（ａａ１７９～１９３）はさらに高い相同性を共有し（６７％の同一性）、一方、対照的に、配列全体はわずか２５％の同一性を共有するのみである。

【０３２３】

突然変異誘発に基づく手法を用いて、ＬＣ１０　ＹＴＥに対する結合に重要なものとしてａａ２４８～２７７に対応するセグメントを同定した。これを、ＬＣ１０　ＹＴＥ／α毒素複合体構造の構造解析によりさらに確認した。構造解析から、ａａ２６１～２７２内に存在するａａ２４８～２７７断片内の特定の接触残基も明らかとなった。

【０３２４】

上記に考察したとおり、ＬＣ１０　ＹＴＥ　ｍＡｂの接触残基を決定するＸ線結晶学実験を行った。精製α毒素（残基１～２９３）及びＬＣ１０　ＹＴＥ　Ｆａｂを別個に濃縮した。ほぼ等モル量のこれらのタンパク質を共に混合し、溶液をセファデックス（Ｓｅｐｈａｄｅｘ）Ｓ７５（ＧＥ　Ｈｅａｌｔｈｃａｒｅ）カラムでのゲルろ過クロマトグラフィーに供した。溶離ピークは、互いに結合した双方のタンパク質分子を含んだ。さらなる濃縮及び結晶化により、２．５Åまで回折した結晶が生じた。

【０３２５】

分子置換法を用いて複合体の構造を解析した。ＬＣ１０　ＹＴＥ　Ｆａｂの鋳型として、相補性決定領域が取り除かれた予め決定されたＦａｂ構造（Ｄ２５）を用いた。α毒素分子の鋳型として、何らかの切断によるヘプタマー複合体（ＰＤＢ　Ｉｄ．７ＡＨＬ）に由来するα毒素分子のモノマーを用いた。結晶学的研究に用いたα毒素分子の配列は、配列番号３９の配列に対応する。ＬＣ１０　ＹＴＥ－α毒素複合体の非対称ユニット毎に２

つの複合体を、ＣＣＰ４プログラムスイートのＰｈａｓｅｒプログラムを使用して同定した。ＣＣＰ４プログラムスイートのＲｅｆｍａｃプログラムを使用して構造モデルをさらに精緻化した。特定の結晶学プログラム「Ｏ」を用いて手動構築及び反復的モデル改良を実施した。

【０３２６】

Ｆａｂの重鎖及び軽鎖の双方が、α毒素分子と接触していることが分かった（図２２）。特に、結晶学的研究から、重鎖及び軽鎖の双方について以下に対応するα毒素分子内の接触残基が決定された：Ｎ１７７、Ｗ１７９、Ｇ１８０、Ｐ１８１、Ｙ１８２、Ｄ１８３、Ｄ１８５、Ｓ１８６、Ｗ１８７、Ｎ１８８、Ｐ１８９、Ｖ１９０、Ｙ１９１及びＲ２００。加えて、軽鎖はＴ２６１、Ｔ２６３、Ｎ２６４、Ｋ２６６及びＫ２７１で接触を有することが決定された。パラトープは以下のとおり同定された：ＬＣ－Ｗ３２（ＣＤＲ１）、Ｋ５０（ＣＤＲ２）、Ｙ９１、Ａ９２、Ｎ９３、Ｙ９４、Ｗ９５（ＣＤＲ３）；ＨＣ－Ｄ３３（ＣＤＲ１）、Ｔ５３、Ａ５４、Ｄ５６、Ｙ５８（ＣＤＲ２）、Ｄ９８、Ｙ１００、Ｐ１０２、Ｔ１０３、Ｇ１０４、Ｈ１０５、Ｙ１０６（ＣＤＲ３）。

【０３２７】

結晶解析の構造データを組み込む分子モデリングから、モノマー状態からヘプタマー状態への移行時にα毒素構造のほとんどが変化しないままであったことが明らかとなった。しかしながら、決定的な結合領域（接触残基がＴ２６１、Ｔ２６３、Ｎ２６４、Ｋ２６６及びＫ２７１として同定されたところ）は、ヘプタマー形成に関与するα毒素分子の一部分に対応することが示された。α毒素分子がモノマー状態のときにコンパクトにフォールディングされているのは、この決定的な領域であり、これはループとして伸長した後宿主細胞膜に挿入され（図２３ｂ）、ヘプタマー状態に集合した後、最終的にキノコ状構造の柄を形成する（図２３ａ）。ヘプタマー状態ではこの領域は、図２４ａに示されるとおり、ＬＣ１０　ＹＴＥ抗体分子による結合から遮蔽されていると予想され得る。

【０３２８】

実施例１２：抗ブドウ球菌α毒素抗体の治療効果

上記で考察される結果は、予防に用いられる抗ＡＴ　ｍＡｂの効力を説明する。これらのｍＡｂが治療においても機能し得る可能性を探るため、皮膚壊死モデル及び肺炎モデルの双方において治療状況でのＬＣ１０の効力を試験した。皮膚壊死モデルでは、細菌攻撃の２４時間前（予防）、及び皮内感染の１時間後、３時間後又は６時間後（治療）にＬＣ１０をＩＶ投与した。動物の病変サイズを６日間モニタした。予防（２４時間前）及び感染後１時間又は３時間での治療により、陰性対照（Ｒ３４７）と比べて病変サイズが低下した（図２４）。このモデルでＬＣ１０を感染６時間後に送達した場合、強力な治療利益は失われた。これらの結果は、ＬＣ１０がブドウ球菌性皮膚軟組織感染に有効な治療として機能し得ることを示している。

【０３２９】

肺炎モデルにおいて同様の実験を行い、ここではＬＣ１０を予防で、又は鼻腔内感染の１時間後、３時間後若しくは６時間後に、マウスに送達（ＩＶ）した。予想どおり、予防的なｍＡｂ投与により完全な生存が得られた（図２５）。ＬＣ１０を感染１時間後、３時間後又は６時間後に投与した場合に完全な生存は得られなかったが、感染１時間後の治療において最大ＬＣ１０用量で使用した場合、死亡までの時間が陰性対照と比べて有利であった。高い感染量及び急速な死亡発生のモデル要件をふまえると、これらの生存改善は、ヒト感染時の治療的改善が起こり得ることを示している。

【０３３０】

実施例１３：抗α毒素ｍＡｂ　ＬＣ－１０と組み合わせたバンコマイシンの効力

マウス肺炎モデルにおけるバンコマイシンによる補助療法に用いられる抗α毒素ｍＡｂ　ＬＣ　１０の潜在能力を評価する試験を、抗α毒素ｍＡｂ及びバンコマイシンの単剤療法を併用療法と比較することにより実施した。

【０３３１】

７週齢の雌Ｃ５７ＢＬ／６Ｊマウスに２ｅ８ｃｆｕ（ＬＤ１００）のメチシリン耐性黄

色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ａｕｒｅｕｓ）ＵＳＡ３００株を鼻腔内感染させた。バンコマイシン及びＬＣ－１０をそれぞれ漸変させて最適用量及び準有効用量を決定した。単剤療法又はバンコマイシンとの二剤療法におけるｍＡｂの評価のため、感染１時間後に単一の腹腔内用量のＬＣ－１０又は陰性対照抗体Ｒ３４７（１５ｍｇ／ｋｇ）により、マウスを処置した。単剤又は二剤療法におけるバンコマイシン処置は、感染１時間後に開始し、ＢＩＤで３日間皮下投与した。７日間の終わりに全ての処置群の生存率を決定した。マンテル・コックス（Ｍａｎｄｅｌ－Ｃｏｘ）ログ・ランク検定を用いて生存曲線を分析した。

【０３３２】

２００又は４０ｍｇ／ｋｇ／日のバンコマイシンによる処置により、それぞれ９０％及び４３％の生存が得られた。感染後の４５又は１５ｍｇ／ｋｇのＬＣ－１０による単剤療法では、マウスの５０％及び３３％が防御された（図２６Ａ及び図２６Ｂ）。単一の準有効用量のＬＣ－１０（１５ｍｇ／ｋｇ）と４０ｍｇ／ｋｇのバンコマイシンのＢＩＤ投与との併用療法では、動物の７５％の生存が得られた。９０パーセントのマウスが、４０ｍｇ／ｋｇ／日のバンコマイシンと４５ｍｇ／ｋｇのＬＣ－１０との併用により生存した。バンコマイシンによる単剤療法と１５ｍｇ／ｋｇ又は４５ｍｇ／ｋｇのいずれかのＬＣ－１０を伴う併用療法との間の生存の差は、統計的に有意であった（それぞれｐ＝０．０２６及びｐ＝０．０１５）。バンコマイシンとＬＣ－１０との同時投与はアイソボログラム分析による相乗効果を生じた（図２７）。

【０３３３】

実施例１４：具体的な実施形態の例

以下に特定の実施形態の非限定的な例を提供する。

Ａ１．黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ａｕｒｅｕｓ）α毒素ポリペプチドに免疫特異的に結合し、且つ

（ａ）配列番号７、１０、１３又は６９と同一の、又はそれと比べて１、２、又は３個のアミノ酸残基置換を含むアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ１；

（ｂ）配列番号８、１１、１４、１７、７０又は７５と同一の、又はそれと比べて１、２、又は３個のアミノ酸残基置換を含むアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ２、及び

（ｃ）配列番号９、１２、１５、１８、１６、６５、６６、６７、７１、７２、７６又は７８と同一の、又はそれと比べて１、２、又は３個のアミノ酸残基置換を含むアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ３

を含む単離抗体又はその抗原結合断片。

【０３３４】

Ａ２．ＶＨ　ＣＤＲ１、ＶＨ　ＣＤＲ２及びＶＨ　ＣＤＲ３が、配列番号７、８及び９；配列番号１０、１１及び１２；配列番号１３、１４及び１５；配列番号７、１７及び１８；配列番号７、８及び１６；配列番号７、８及び６５；配列番号７、８及び６６；配列番号７、８、及び６７；配列番号７、８及び７８；配列番号６９、７０及び７１；配列番号７、８及び７２；配列番号６９、７５及び７１；配列番号６９、７５及び７６；又は配列番号６９、７０及び７１により表される、実施形態Ａ１に記載の抗体又は抗原結合断片。

【０３３５】

Ａ３．単離抗体又はその抗原結合断片であって、黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ａｕｒｅｕｓ）α毒素ポリペプチドに免疫特異的に結合し、且つ

（ａ）配列番号７、１０、１３又は６９のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ１；

（ｂ）配列番号８、１１、１４、１７、７０又は７５のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ２；

（ｃ）配列番号９、１２、１５、１８、１６、６５、６６、６７、７１、７２、７６又は７８のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ３；

（ｄ）配列番号１又は４のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ１；

（ｅ）配列番号２、５、７３又は７７のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ２；及び

（ｆ）配列番号３、６、６４、６８又は７４のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ３
を含む単離抗体又はその抗原結合断片。
【０３３６】
Ａ４．ＶＨ　ＣＤＲ１、ＶＨ　ＣＤＲ２、ＶＨ　ＣＤＲ３、ＶＬ　ＣＤＲ１、ＶＬ　ＣＤＲ２及びＶＬ　ＣＤＲ３が、配列番号７、８、９、１、２及び３；配列番号１０、１１、１２、１、２及び３；配列番号１３、１４、１５、４、５及び６；配列番号７、１７、１８、１、２及び３；配列番号７、８、１６、１、２及び６４；配列番号７、８、６５、１、２及び６４；配列番号７、８、６６、１、２及び６４；配列番号７、８、６７、１、２及び６８；配列番号７、８、６７、１、２及び６４；配列番号７、８、７８、１、２及び６４；配列番号７、８、６５、１、２及び６８；配列番号６９、７０、７１、１、２及び６８；配列番号７、８、７２、１、７３及び７４；配列番号６９、７５、７１、１、２及び６８；配列番号６９、７５、７６、１、２及び６８；配列番号６９、７５、７６、１、７７及び７４；配列番号６９、７０、７１、１、７７及び７４のアミノ酸配列に対応する、実施形態Ａ３に記載の抗体又は抗原結合断片。
【０３３７】
Ａ５．単離抗体又はその抗原結合断片が、（ｉ）３つのＣＤＲを含むＶＨ鎖ドメインと３つのＣＤＲを含むＶＬ鎖ドメインとを含み；及び（ｉｉ）黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ａｕｒｅｕｓ）α毒素ポリペプチドに免疫特異的に結合し、ＶＨ鎖ドメインの３つのＣＤＲが、
（ａ）配列番号７、１０、１３又は６９のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ１；
（ｂ）配列番号８、１１、１４、１７、７０又は７５のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ２；及び
（ｃ）配列番号９、１２、１５、１８、１６、６５、６６、６７、７１、７２、７６又は７８のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ３
を含む、実施形態Ａ１に記載の単離抗体又はその抗原結合断片。
【０３３８】
Ａ６．ＶＨ　ＣＤＲ１、ＶＨ　ＣＤＲ２及びＶＨ　ＣＤＲ３が、配列番号７、８及び９；配列番号１０、１１及び１２；配列番号１３、１４及び１５；配列番号７、１７及び１８；配列番号７、８及び１６；配列番号７、８及び６５；配列番号７、８及び６６；配列番号７、８、及び６７；配列番号７、８及び７８；配列番号６９、７０及び７１；配列番号７、８及び７２；配列番号６９、７５及び７１；配列番号６９、７５及び７６；又は配列番号６９、７０及び７１のアミノ酸配列に対応する、実施形態Ａ５に記載の抗体又は抗原結合断片。
【０３３９】
Ａ７．単離抗体又はその抗原結合断片が、（ｉ）３つのＣＤＲを含むＶＨ鎖ドメインと３つのＣＤＲを含むＶＬ鎖ドメインとを含み；及び（ｉｉ）黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ａｕｒｅｕｓ）α毒素ポリペプチドに免疫特異的に結合し、ＶＬ鎖ドメインの３つのＣＤＲが、
（ａ）配列番号１又は４のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ１；
（ｂ）配列番号２、５、７３又は７７のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ２；及び
（ｃ）配列番号３、６、６４、６８又は７４のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ３
を含む、実施形態Ａ１に記載の単離抗体又はその抗原結合断片。
【０３４０】
Ａ８．ＶＬ　ＣＤＲ１、ＶＬ　ＣＤＲ２及びＶＬ　ＣＤＲ３が、配列番号１、２及び３；配列番号４、５及び６；配列番号１、２及び６４；配列番号１、２及び６８；配列番号１、７３及び７４；又は配列番号１、７７及び７４のアミノ酸配列に対応する、実施形態Ａ７に記載の抗体又は抗原結合断片。
【０３４１】
Ａ９．（ｉ）黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ａｕｒｅｕｓ）α毒素ポリペプチドに免疫特異的に結合し、（ｉｉ）配列番号２０、２２、２４、２６、２８、

４１、４３、４５、４７、４９、５１、５３、５５、５７、７９、５９、６１、又は６２のアミノ酸配列と少なくとも９０％の同一性を有する重鎖可変ドメインを含み、及び（ｉｉ）配列番号１９、２１、２３、２５、２７、４２、４４、４６、４８、５０、５２、５４、５６、５８、６０又は６３のアミノ酸配列と少なくとも９０％の同一性を有する軽鎖可変ドメインを含む単離抗体又はその抗原結合断片。

【０３４２】

Ａ１０．ＶＨ及びＶＬが、配列番号２０及び１９；配列番号２２及び２１；配列番号２４及び２３；配列番号２６及び２５；配列番号２８及び２７；配列番号４１及び４２；配列番号４３及び４４；配列番号４５及び４６；配列番号４７及び４８；配列番号４７及び４８；配列番号４９及び５０；配列番号５１及び５２；配列番号５１及び５２；配列番号５３及び５４；配列番号５５及び５６；配列番号５７及び５８；配列番号５９及び６０；配列番号６１及び５８；配列番号６２及び５８；配列番号６２及び６３；配列番号７９及び６３のアミノ酸配列に対応する、実施形態Ａ９に記載の抗体又は抗原結合断片。

【０３４３】

Ａ１１．単離抗体又はその抗原結合断片であって、配列番号２０、２２、２４、２６、２８、４１、４３、４５、４７、４９、５１、５３、５５、５７、７９、５９、６１、又は６２の重鎖可変ドメインと、配列番号１９、２１、２３、２５、２７、４２、４４、４６、４８、５０、５２、５４、５６、５８、６０又は６３の軽鎖可変ドメインとを含む単離抗体又はその抗原結合断片。

【０３４４】

Ａ１２．ＶＨ及びＶＬが、配列番号２０及び１９；配列番号２２及び２１；配列番号２４及び２３；配列番号２６及び２５；配列番号２８及び２７；配列番号４１及び４２；配列番号４３及び４４；配列番号４５及び４６；配列番号４７及び４８；配列番号４７及び４８；配列番号４９及び５０；配列番号５１及び５２；配列番号５１及び５２；配列番号５３及び５４；配列番号５５及び５６；配列番号５７及び５８；配列番号５９及び６０；配列番号６１及び５８；配列番号６２及び５８；配列番号６２及び６３；配列番号７９及び６３のアミノ酸配列に対応する、実施形態Ａ１１に記載の抗体又は抗原結合断片。

【０３４５】

Ａ１３．単離抗体又はその抗原結合断片が、黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ａｕｒｅｕｓ）α毒素ポリペプチドに免疫特異的に結合し、且つ
（ａ）約１３ｎＭ以下のα毒素に対する親和性定数（K_D）；
（ｂ）α毒素モノマーに結合するが、α毒素のα毒素受容体との結合は阻害しない；
（ｃ）α毒素オリゴマーの形成を少なくとも５０％、６０％、７０％、８０％、９０％、又は９５％阻害する；
（ｄ）α毒素細胞溶解活性を（例えば、細胞溶解及び溶血アッセイにより決定されるとき）少なくとも５０％、６０％、７０％、８０％、９０％、又は９５％低下させる；及び
（ｅ）細胞浸潤及び炎症誘発性サイトカイン放出を（例えば、動物肺炎モデルにおいて）低下させる
からなる群から選択される特性の１つ以上を有する、実施形態Ａ１～Ａ１２のいずれか一つに記載の抗体又は抗原結合断片。

【０３４６】

Ａ１４．単離抗体又はその抗原結合断片がさらなる薬剤を含む、実施形態Ａ１～Ａ１３のいずれか一つに記載の抗体又は抗原結合断片。

【０３４７】

Ａ１５．さらなる薬剤が抗生物質である、実施形態Ａ１４に記載の抗体又は抗原結合断片。

【０３４８】

Ａ１６．単離抗体又はその抗原結合断片が、治療剤にリンカーを介して連結される、実施形態Ａ１４に記載の抗体又は抗原結合断片。

【０３４９】

Ａ１７．単離抗体又はその抗原結合断片が診断用薬剤をさらに含む、実施形態Ａ１～Ａ１３のいずれか一つに記載の抗体又は抗原結合断片。

【０３５０】

Ａ１８．診断用薬剤が造影剤を含む、実施形態Ａ１７に記載の抗体又は抗原結合断片。

【０３５１】

Ａ１９．診断用薬剤が検出可能標識を含む、実施形態Ａ１７に記載の抗体又は抗原結合断片。

【０３５２】

Ａ２０．単離抗体又はその抗原結合断片が、診断用薬剤にリンカーを介して連結される、実施形態Ａ１７に記載の抗体又は抗原結合断片。

【０３５３】

Ａ２１．黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ａｕｒｅｕｓ）α毒素ポリペプチドが天然の毒素ポリペプチドである、実施形態Ａ１～Ａ２０のいずれか一つに記載の抗体又は抗原結合断片。

【０３５４】

Ａ２２．黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ａｕｒｅｕｓ）α毒素ポリペプチドが、配列番号３９又は配列番号４０のアミノ酸配列を含む、実施形態Ａ１～Ａ２０のいずれか一つに記載の抗体又は抗原結合断片。

【０３５５】

Ａ２３．細胞が血液又は肺由来である、実施形態Ａ１３に記載の抗体又は抗原結合断片。

【０３５６】

Ａ２４．血液由来の細胞が赤血球細胞である、実施形態Ａ２３に記載の抗体又は抗原結合断片。

【０３５７】

Ａ２５．細胞溶解が溶血インビトロアッセイ又は乳酸デヒドロゲナーゼインビトロアッセイにより決定される、実施形態Ａ１３、Ａ２３及びＡ２４のいずれか一つに記載の抗体又は抗原結合断片。

【０３５８】

Ａ２６．単離抗体又はその抗原結合断片が、黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ａｕｒｅｕｓ）α毒素ポリペプチドに免疫特異的に結合し、且つ配列番号９、１２、１５、１８、１６、６５、６６、６７、７１、７２、７６又は７８と同一の、又はそれと比べて１、２、又は３個のアミノ酸残基置換を含むアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ３を含み、抗体又は抗原結合断片が、黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ａｕｒｅｕｓ）α毒素ポリペプチドを中和する、実施形態Ａ１～Ａ２５のいずれか一つに記載の抗体又は抗原結合断片。

【０３５９】

Ａ２７．単離抗体又はその抗原結合断片が、黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ａｕｒｅｕｓ）α毒素ポリペプチドに免疫特異的に結合し、且つ配列番号３、６、６４、６８又は７４と同一の、又はそれと比べて１、２、又は３個のアミノ酸残基置換を含むアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ３を含み、抗体又は抗原結合断片が、黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ａｕｒｅｕｓ）α毒素ポリペプチドを中和する、実施形態Ａ１～Ａ２６のいずれか一つに記載の抗体又は抗原結合断片。

【０３６０】

Ａ２８．単離抗体又はその抗原結合断片が、黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ａｕｒｅｕｓ）α毒素ポリペプチドに免疫特異的に結合し、且つ配列番号９、１２、１５、１８、１６、６５、６６、６７、７１、７２、７６又は７８と同一の、又はそれと比べて１、２、又は３個のアミノ酸残基置換を含むアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ３を含み、抗体又は抗原結合断片が、黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ａｕｒｅｕｓ）α毒素ポリペプチドのオリゴマー形成を阻害する、実施形態Ａ１～Ａ２７

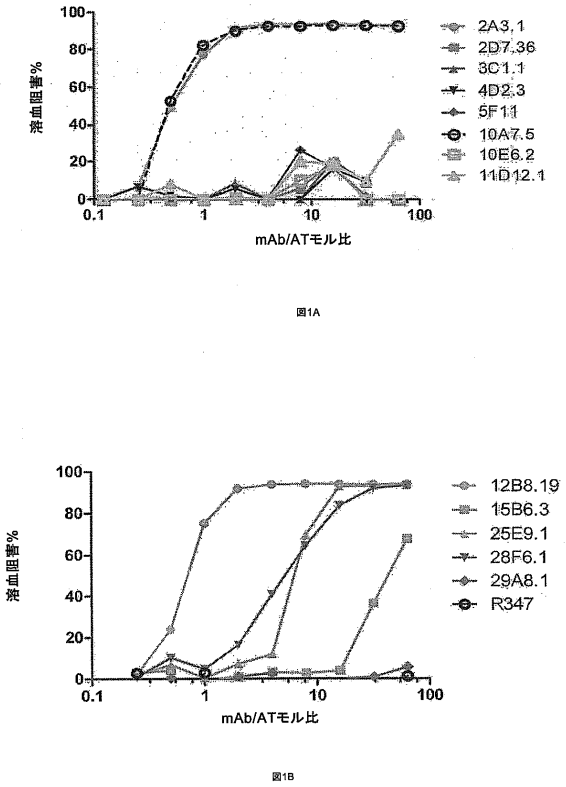
のいずれか一つに記載の抗体又は抗原結合断片。
【０３６１】
Ａ２９．単離抗体又はその抗原結合断片が、黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ａｕｒｅｕｓ）α毒素ポリペプチドに免疫特異的に結合し、且つ配列番号３、６、６４、６８又は７４と同一の、又はそれと比べて１、２、又は３個のアミノ酸残基置換を含むアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ３を含み、抗体又は抗原結合断片が、黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ａｕｒｅｕｓ）α毒素ポリペプチドのオリゴマー形成を阻害する、実施形態Ａ１～Ａ２８のいずれか一つに記載の抗体又は抗原結合断片。
【０３６２】
Ａ３０．オリゴマー形成の阻害が、インビトロ結合及び／又は電気泳動移動度アッセイにより決定される、実施形態Ａ１３、Ａ２８及びＡ２９のいずれか一つに記載の抗体又は抗原結合断片。
【０３６３】
Ｄ１．実施形態Ａ１～Ａ３０のいずれか一つに記載の抗体又は抗原結合断片を含む組成物。
【０３６４】
Ｂ１．（ａ）実施形態Ａ１～Ａ３０のいずれか一つに記載の抗体若しくは抗原結合断片又は実施形態Ｄ１に記載の組成物；
（ｂ）組成物の使用説明書又は組成物の使用説明書の入手方法指図書
を含むキット。
【０３６５】
Ｂ２．組成物中の抗体が固体担体に連結されている、実施形態Ｂ１に記載のキット。
【０３６６】
Ｂ３．固体担体がビーズである、実施形態Ｂ２に記載のキット。
【０３６７】
Ｂ４．ビーズがセファロースビーズである、実施形態Ｂ３に記載のキット。
【０３６８】
Ｂ５．使用説明書が、黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ａｕｒｅｕｓ）α毒素ポリペプチドの単離、精製、検出及び定量化の１つ以上を収録している、実施形態Ｂ１～Ｂ４のいずれか一つに記載のキット。
【０３６９】
Ｂ６．緩衝液、固体担体又は緩衝液及び固体担体を含む、実施形態Ｂ１～Ｂ５のいずれか一つに記載のキット。
【０３７０】
Ｂ７．固体担体が、ビーズ、フィルター、膜及びマルチウェルプレートの１つ以上である、実施形態Ｂ６に記載のキット。
【０３７１】
Ｂ８．ウエスタンブロットに好適な緩衝液及び膜を含む、実施形態Ｂ６に記載のキット。
【０３７２】
Ｂ９．負荷緩衝液と溶出緩衝液とを含む、実施形態Ｂ６に記載のキット。
【０３７３】
Ｂ１０．酵素結合免疫吸着（ｅｎｚｙｍｅ－ｌｉｎｋｅｄ　ｉｍｍｕｎｏｓｏｒｂａｎｔ）アッセイ（ＥＬＩＳＡ）に好適な緩衝液を含む、実施形態Ｂ６に記載のキット。
【０３７４】
Ｃ１．対象における肺炎の予防、治療又は管理方法であって、
実施形態Ａ１～Ａ３０のいずれか一つに記載の抗体若しくは抗原結合断片又は実施形態Ｄ１に記載の組成物を、それを必要とする対象に対し、肺炎を予防、治療又は管理するのに有効な量で投与するステップ
を含む方法。

【０３７５】
Ｃ２．肺炎の予防方法である、実施形態Ｃ１に記載の方法。
【０３７６】
Ｃ３．抗体又はその抗原結合断片が、配列番号３９内の立体構造エピトープに免疫特異的に結合する、実施形態Ｃ１又はＣ２に記載の方法。
【０３７７】
Ｃ４．対象における皮膚感染病態の予防、治療又は管理方法であって、黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ａｕｒｅｕｓ）α毒素ポリペプチドに免疫特異的に結合する抗体又はその抗原結合断片を、それを必要とする対象に対し、皮膚感染病態を予防、治療又は管理するのに有効な量で投与するステップを含む方法。
【０３７８】
Ｃ５．皮膚感染病態が皮膚壊死である、実施形態Ｃ４に記載の方法。
【０３７９】
Ｃ６．皮膚感染病態が、皮膚の黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ａｕｒｅｕｓ）感染を含む、実施形態Ｃ４又はＣ５に記載の方法。
【０３８０】
Ｃ７．皮膚感染病態の予防方法である、実施形態Ｃ４～Ｃ６のいずれか一つに記載の方法。
【０３８１】
Ｃ８．黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ａｕｒｅｕｓ）感染に関連する病態の予防、治療又は管理方法であって、黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ａｕｒｅｕｓ）α毒素ポリペプチドに免疫特異的に結合する抗体又はその抗原結合断片を、それを必要とする対象に対し、毒素ポリペプチドのオリゴマー形成を低減するのに有効な量で投与するステップを含む方法。
【０３８２】
Ｃ９．黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ａｕｒｅｕｓ）感染に関連する病態の予防方法である、実施形態Ｃ８に記載の方法。
【０３８３】
Ｃ１０．黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ａｕｒｅｕｓ）感染に関連する病態の予防、治療又は管理方法であって、黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ａｕｒｅｕｓ）α毒素ポリペプチドに免疫特異的に結合する抗体又はその抗原結合断片を、それを必要とする対象に対し、赤血球の溶解を低減するのに有効な量で投与するステップを含む方法。
【０３８４】
Ｃ１１．黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ａｕｒｅｕｓ）感染に関連する病態の予防方法である、実施形態Ｃ１０に記載の方法。
【０３８５】
Ｃ１２．赤血球が血液又は肺由来の細胞である、実施形態Ｃ１０又はＣ１１に記載の方法。
【０３８６】
Ｃ１３．抗体又はその抗原結合断片が、
（ａ）約１３ｎＭ以下のα毒素に対する親和性定数（K_D）；
（ｂ）α毒素モノマーに結合するが、α毒素のα毒素受容体との結合は阻害しない；
（ｃ）α毒素オリゴマーの形成を少なくとも５０％、６０％、７０％、８０％、９０％、又は９５％阻害する；
（ｄ）α毒素細胞溶解活性を（例えば、細胞溶解及び溶血アッセイにより決定されるとき）少なくとも５０％、６０％、７０％、８０％、９０％、又は９５％低下させる；及び
（ｅ）細胞浸潤及び炎症誘発性サイトカイン放出を（例えば、動物肺炎モデルにおいて）低下させる
からなる群から選択される特性の１つ以上を有する、実施形態Ｃ４～Ｃ１２のいずれか一

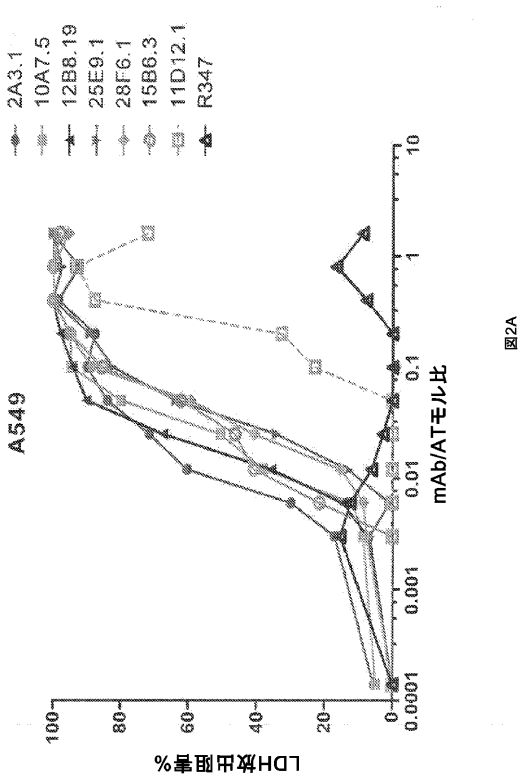
つに記載の方法。
【０３８７】
Ｃ１４．抗体又はその抗原結合断片が、配列番号３９内の立体構造エピトープに免疫特異的に結合する、実施形態Ｃ１３に記載の方法。
【０３８８】
Ｃ１５．対象に投与される抗体若しくは抗原結合断片又は組成物が、実施形態Ａ１～Ａ３０又はＤ１のいずれか一つに従う、実施形態Ｃ１～Ｃ１４のいずれか一つに記載の方法。
【０３８９】
Ｃ１６．実施形態Ａ１～Ａ３０のいずれか一つに記載の抗体若しくは抗原結合断片又は実施形態Ｄ１に記載の組成物を細胞に投与するステップ；及び
細胞への組成物の投与に関連する生物学的作用の存在、非存在又は量を検出するステップ
を含む方法。
【０３９０】
Ｃ１７．実施形態Ａ１～Ａ３０のいずれか一つに記載の抗体若しくは抗原結合断片又は実施形態Ｄ１に記載の組成物を対象に投与するステップ；及び
組成物の投与に関連する対象における生物学的作用の存在、非存在又は量を検出するステップ
を含む方法。
【０３９１】
Ｃ１８．実施形態Ａ１～Ａ３０のいずれか一つに記載の抗体若しくは抗原結合断片又は実施形態Ｄ１に記載の組成物を対象に投与するステップ；及び
対象の状態をモニタするステップ
を含む方法。
【０３９２】
Ｃ１９．黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ａｕｒｅｕｓ）α毒素ポリペプチドの中和方法であって、それを必要とする対象に対し、有効量の実施形態Ａ１～Ａ３０のいずれか一つに記載の抗体若しくは抗原結合断片又は実施形態Ｄ１に記載の組成物を投与して毒素ポリペプチドを中和することによる、方法。
【０３９３】
Ｃ２０．必要とする対象において黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ａｕｒｅｕｓ）α毒素によって媒介される病態を予防、治療、又は管理する方法であって、有効量の実施形態Ａ１～Ａ３０のいずれか一つに記載の抗体若しくは抗原結合断片又は実施形態Ｄ１に記載の組成物を対象に投与して病態を予防、治療又は管理するステップを含む方法。
【０３９４】
Ｃ２１．必要とする対象において黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ａｕｒｅｕｓ）α毒素によって媒介される障害の症状を治療、予防又は緩和する方法であって、有効量の実施形態Ａ１～Ａ３０のいずれか一つに記載の抗体若しくは抗原結合断片又は実施形態Ｄ１に記載の組成物を対象に投与して症状を治療、予防又は緩和するステップを含む方法。
【０３９５】
Ｃ２２．対象において黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ａｕｒｅｕｓ）α毒素によって媒介される病態を診断する方法であって、診断を必要とする対象を選択するステップと、診断上有効な用量の実施形態Ａ１～Ａ３０のいずれか一つに記載の抗体若しくは抗原結合断片又は実施形態Ｄ１に記載の組成物を対象に投与するステップとを含む方法。
【０３９６】
Ｃ２３．対象が家畜である、実施形態Ｃ１～Ｃ２２のいずれか一つに記載の方法。

【０３９７】
Ｃ２４．対象がヒトである、実施形態Ｃ１～Ｃ２２のいずれか一つに記載の方法。
【０３９８】
Ｃ２５．実施形態Ａ１～Ａ３０のいずれか一つに記載の抗体若しくは抗原結合断片又は実施形態Ｄ１に記載の組成物により黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ ａｕｒｅｕｓ）α毒素オリゴマーの形成を少なくとも５０％、６０％、７０％、８０％、９０％又は９５％阻害する方法。
【０３９９】
Ｃ２６．黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ ａｕｒｅｕｓ）α毒素オリゴマーの形成の阻害が、活性な膜孔形成複合体の形成を阻害する、Ｃ２５に記載の方法。
【０４００】
Ｃ２７．実施形態Ａ１～Ａ３０のいずれか一つに記載の抗体若しくは抗原結合断片又は実施形態Ｄ１に記載の組成物により黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ ａｕｒｅｕｓ）α毒素細胞溶解活性を少なくとも５０％、６０％、７０％、８０％、９０％、又は９５％低下させる方法であって、細胞溶解活性が細胞溶解及び／又は溶血アッセイにより決定される、方法。
【０４０１】
本明細書によってここに参照される各特許、特許出願、刊行物及び資料の全体が、参照によって援用される。上記の特許、特許出願、刊行物及び資料の引用は、前述のいずれかが関連する先行技術であることを認めるものではなく、またそれらの刊行物又は資料の内容又は日付に関していかなる承認をなすものでもない。
【０４０２】
上記に対し、本明細書の基本的な態様から逸脱することなく改変を加えることができる。本技術は１つ以上の具体的な実施形態を参照して実質上詳細に記載されているが、当業者は、本願に具体的に開示される実施形態に変更を加えてもよく、しかしなお、それらの改変及び改良が本技術の範囲及び趣旨の範囲内にあることを認識するであろう。
【０４０３】
本明細書に例示的に記載される本技術は、好適には、本明細書に具体的に開示されない要素は一切なしに実施され得る。従って、例えば、本明細書の各例において、用語「～を含む（ｃｏｍｐｒｉｓｉｎｇ）」、「～から本質的になる（ｃｏｎｓｉｓｔｉｎｇ ｅｓｓｅｎｔｉａｌｌｙ ｏｆ）」及び「～からなる（ｃｏｎｓｉｓｔｉｎｇ ｏｆ）」のいずれも他の２つの用語に置き換え得る。用いられている用語及び表現は、限定ではなく、説明の用語として使用され、かかる用語及び表現の使用は、図示及び説明される特徴又はその一部のいかなる均等物も排除するものではなく、特許請求される本技術の範囲内で様々な改変が可能である。用語「ａ」又は「ａｎ」は、要素の１つ又は要素の２つ以上のいずれが記載されているのかが文脈上明らかでない限り、それが修飾する要素の１つ又は複数を指すことができる（例えば、「試薬（ａ ｒｅａｇｅｎｔ）」は１つ以上の試薬を意味し得る）。本技術は代表的な実施形態及び任意選択の特徴によって具体的に開示されているが、本明細書に開示される概念の改変及び変形が当業者によって用いられ得ること、且つかかる改変及び変形が本技術の範囲内にあると見なされることは理解されなければならない。
【０４０４】
本明細書における特定の実施形態は、以下の特許請求の範囲に記載される。

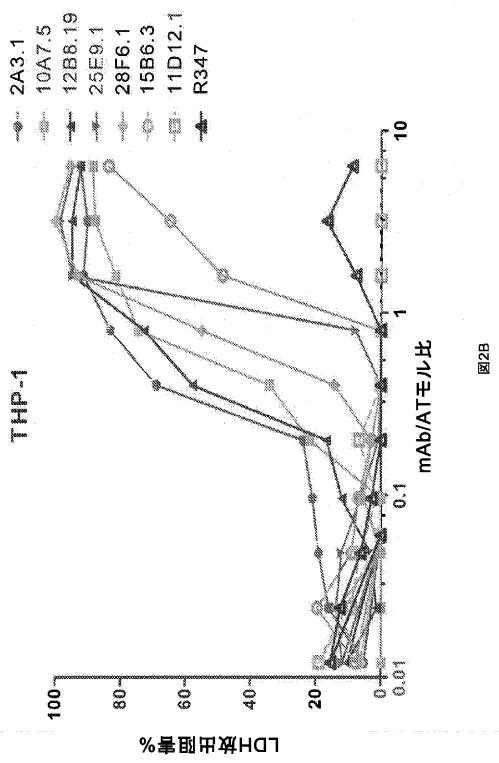
【図１】



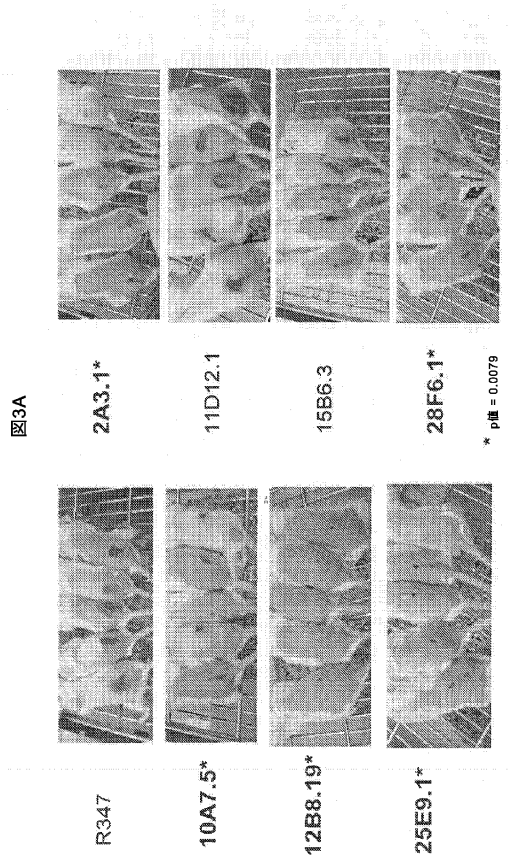
【図２Ａ】



【図２Ｂ】



【図３Ａ】



【図３Ｂ】

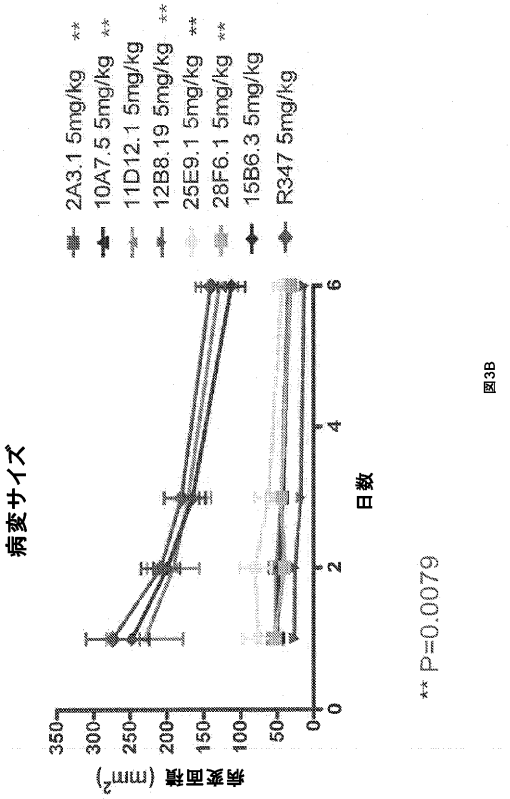


図3B

【図４】

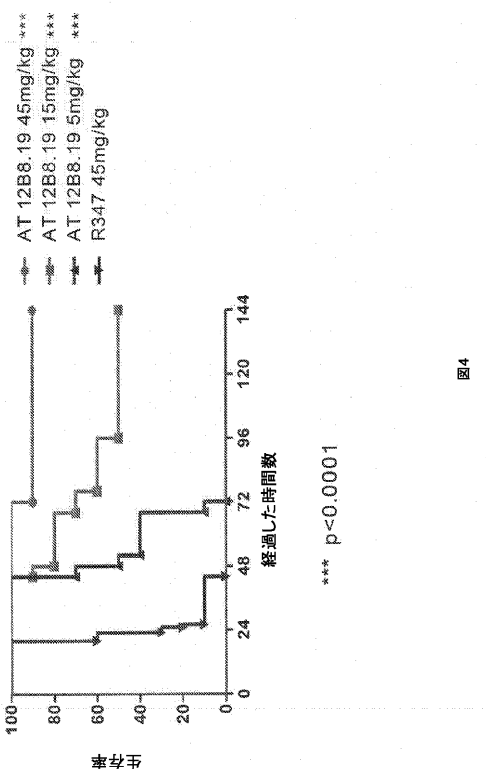


図4

【図５】

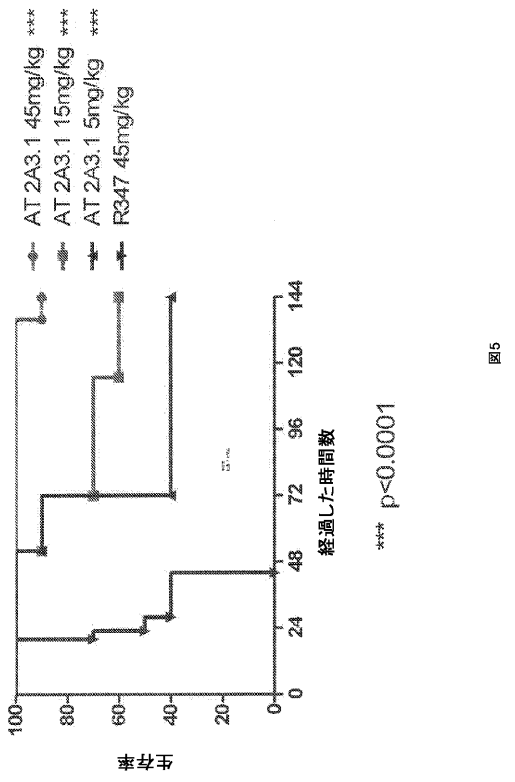


図5

【図６】

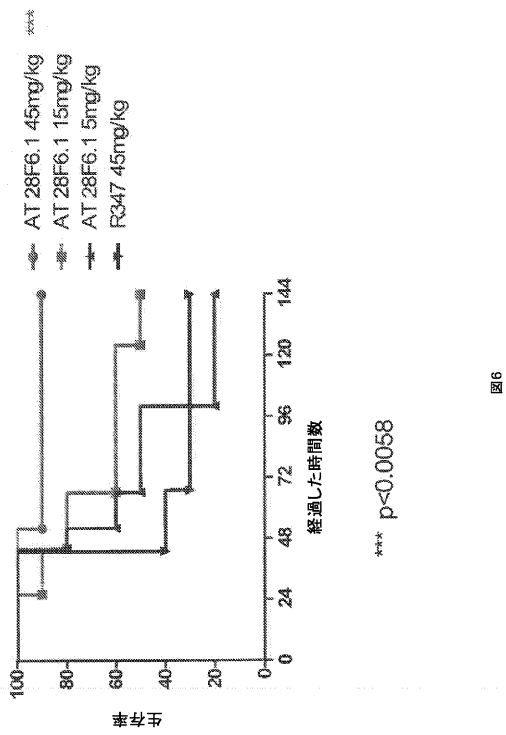


図6

【図７】

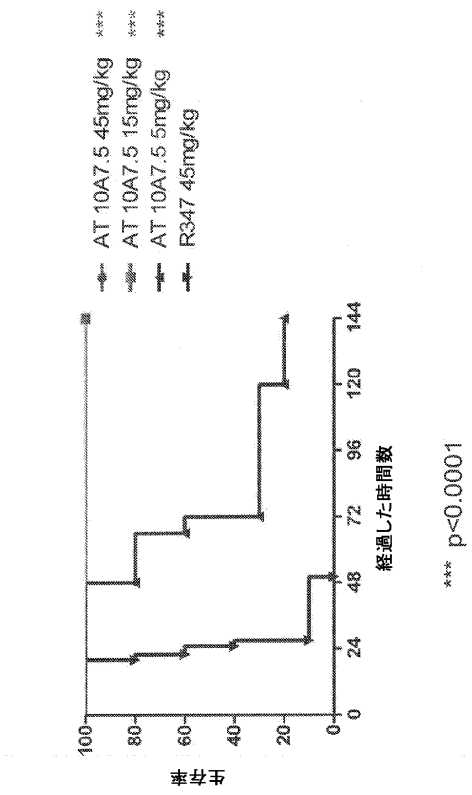


図7

【図８Ａ】

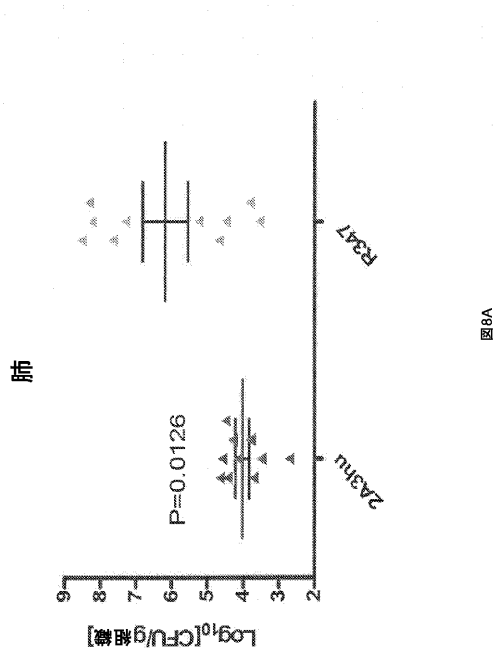


図8A

【図８Ｂ】

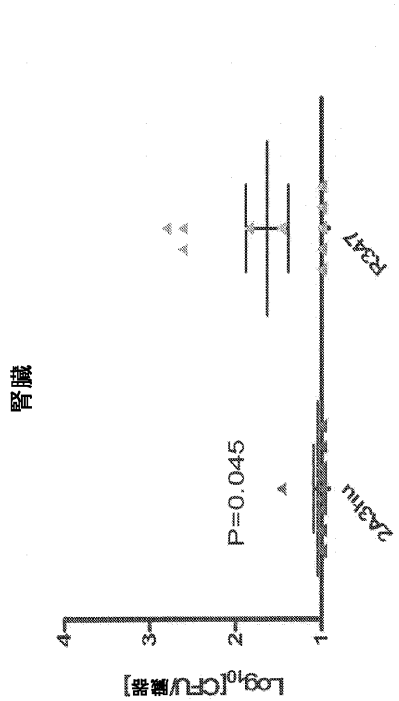
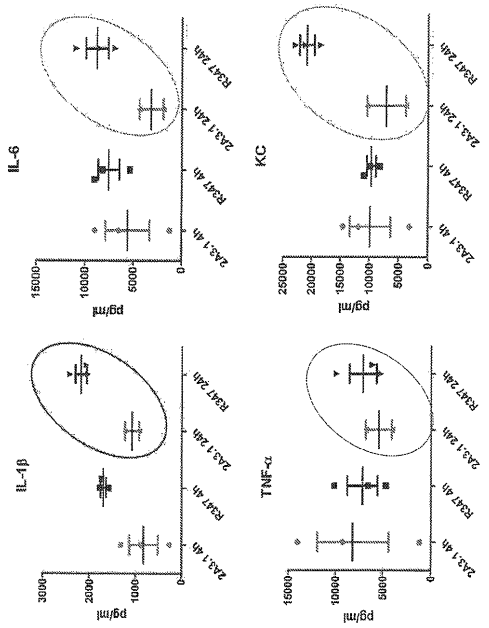


図8B

【図９】



【図１０】

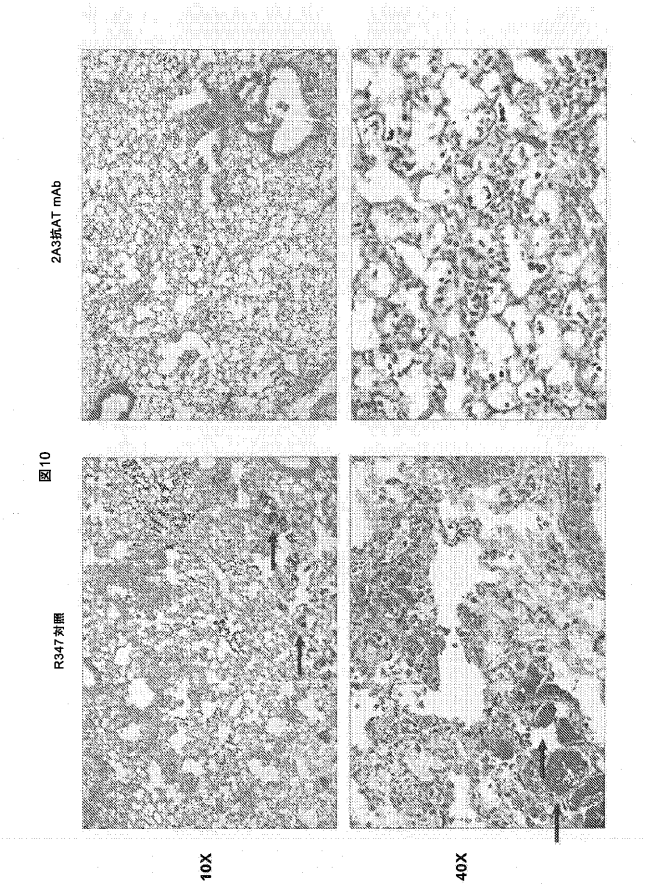


図10

【図１１】

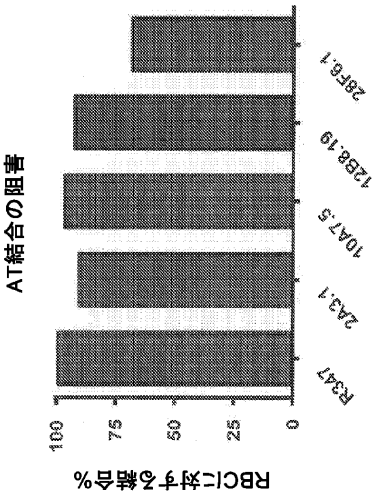


図11

【図１２】

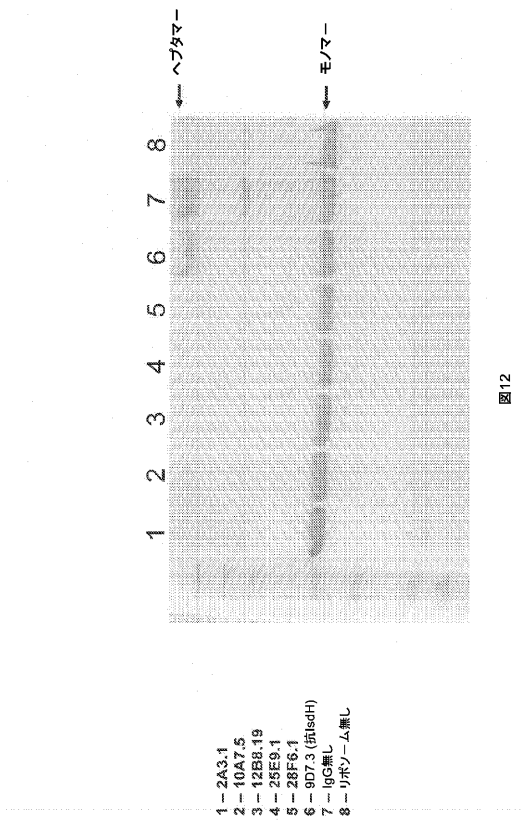


図12

【図１３】

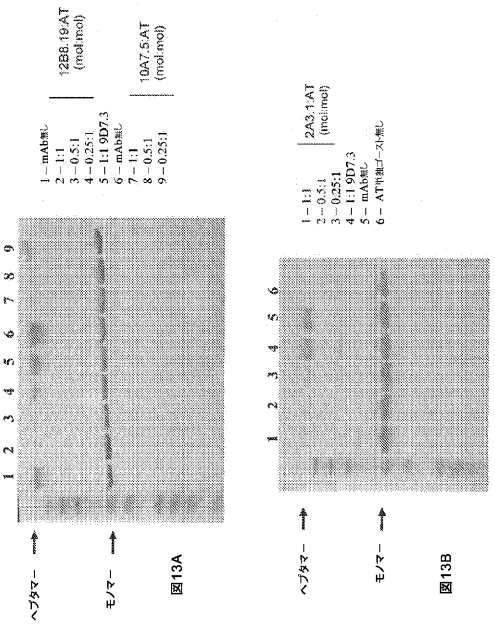
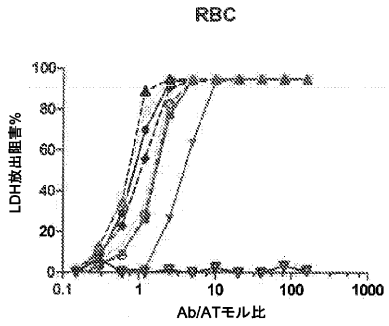


図13A

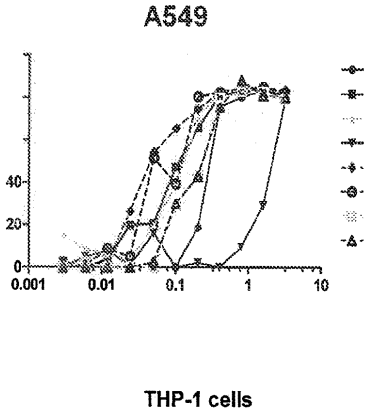
図13B

【図１４】

図14

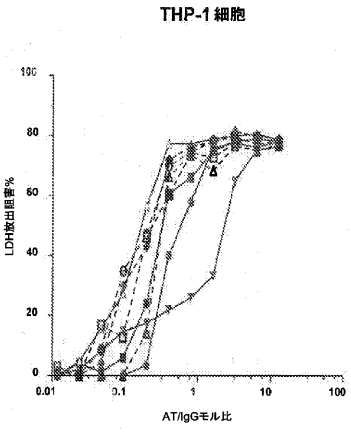


【図１５】



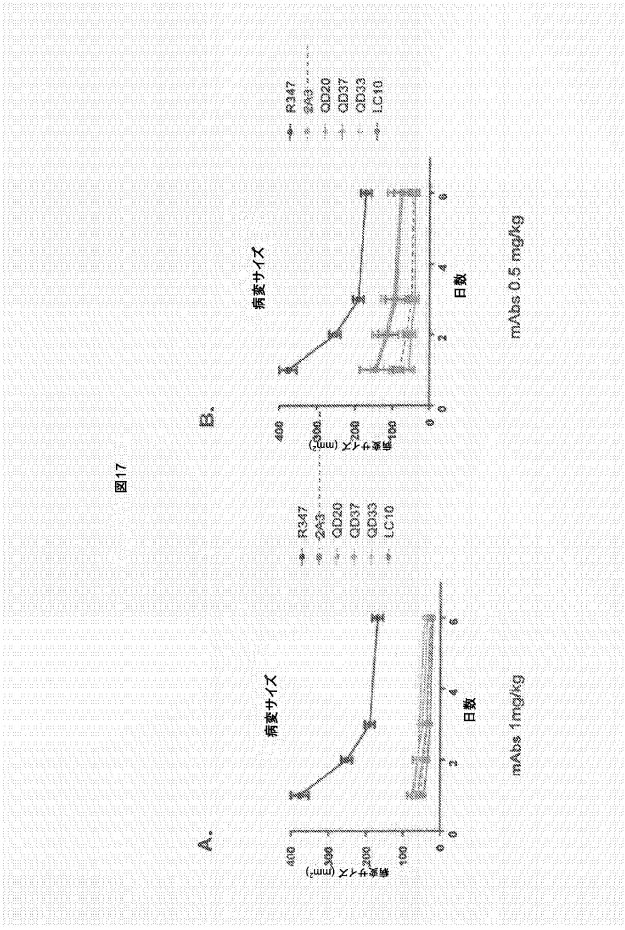
【図１６】

図16

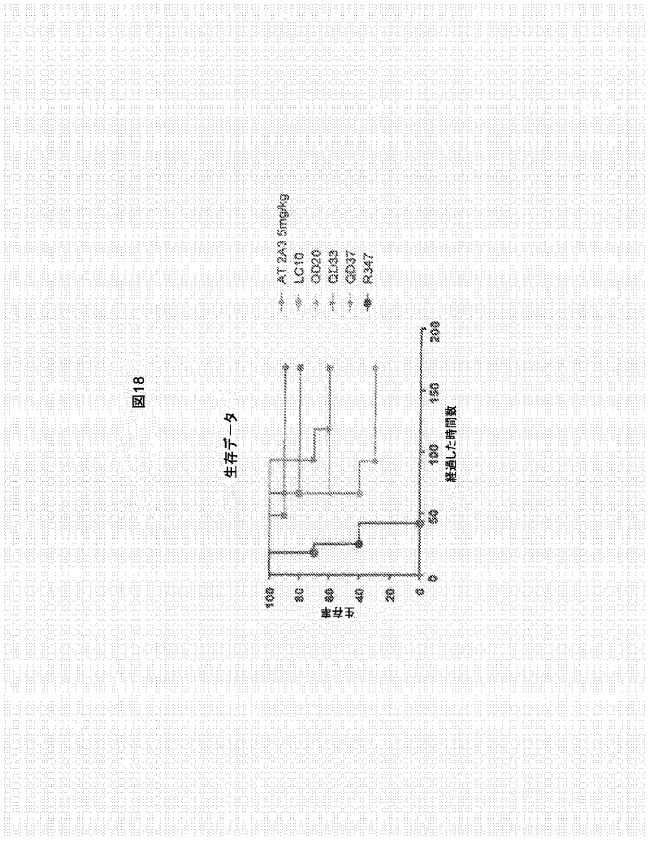


【図１７】

図17



【図１８】



【図１９】

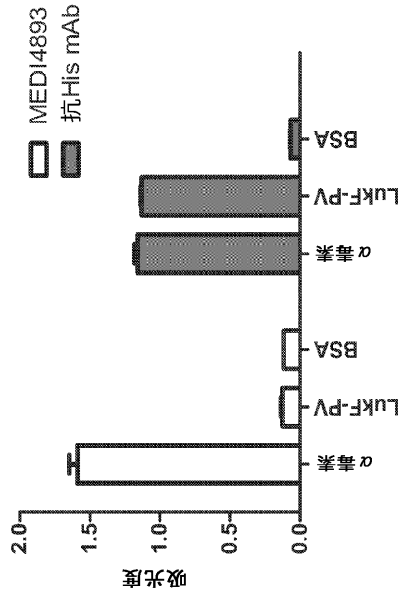


図19

【図２０】

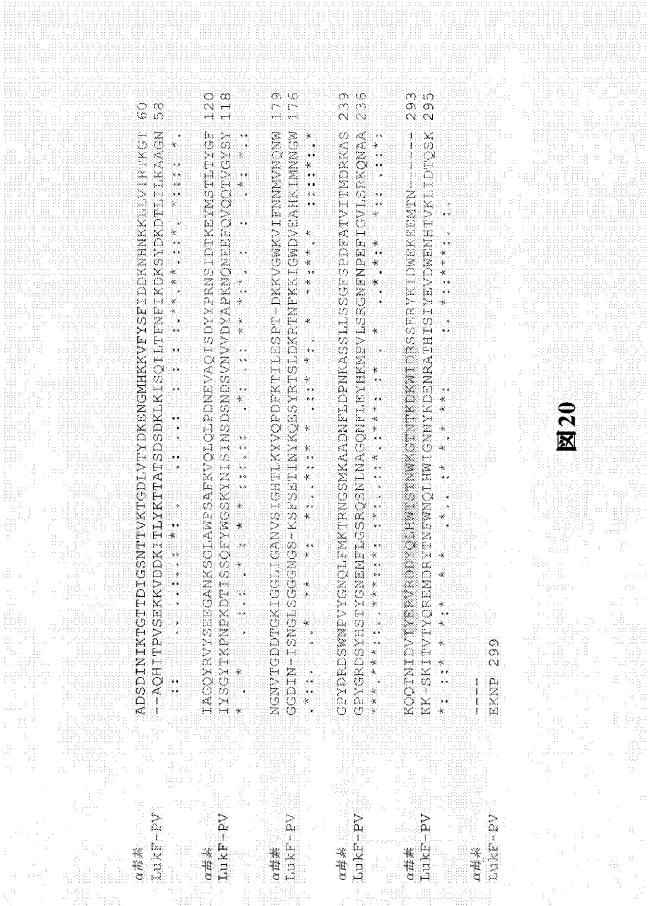


図20

【図２１】

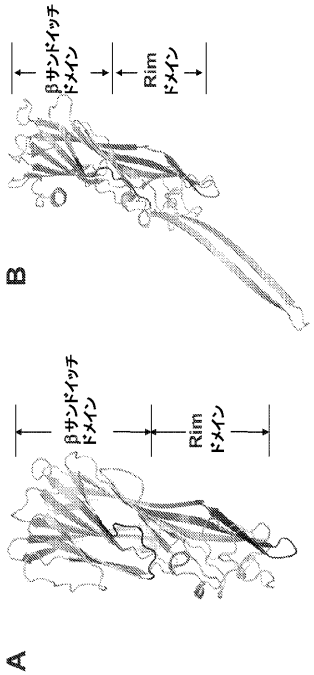


図21

【図２２】

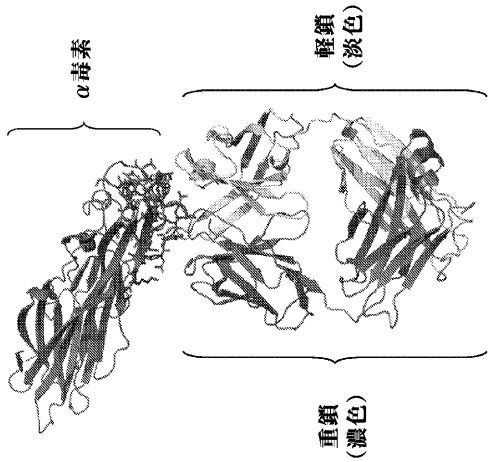
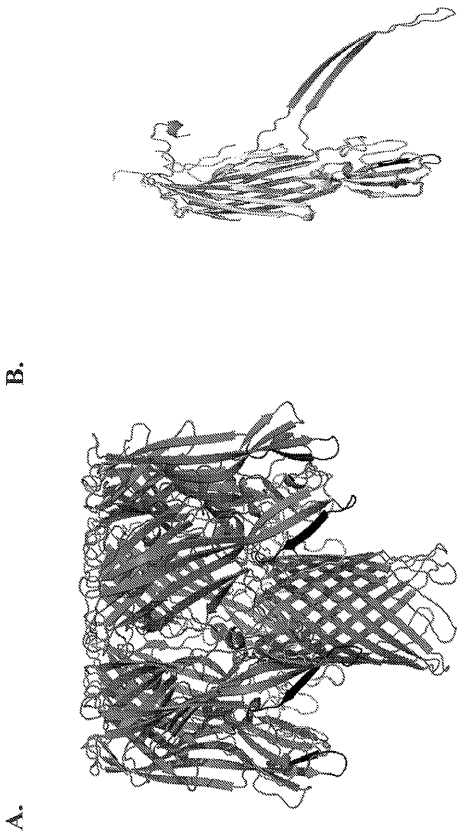


図22

【図２３】



【図２４】

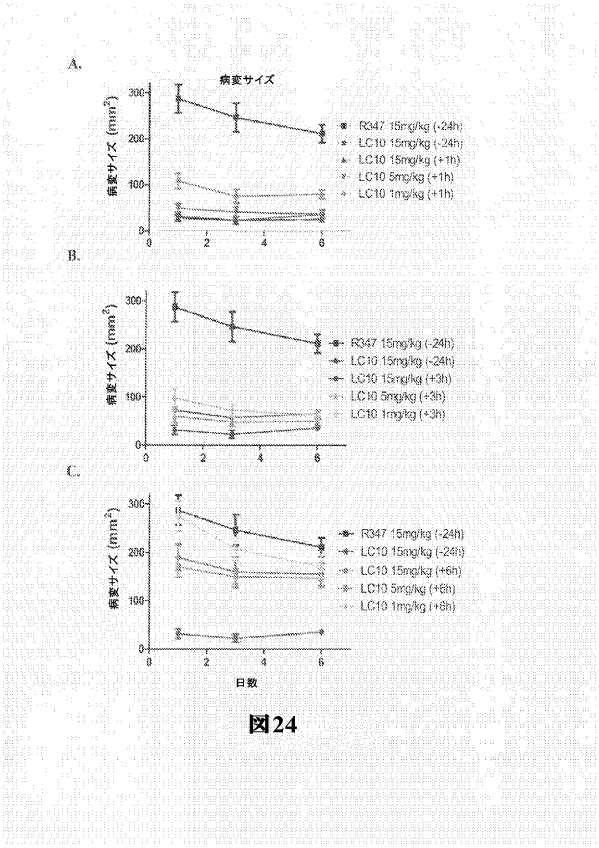


図24

【図２５】

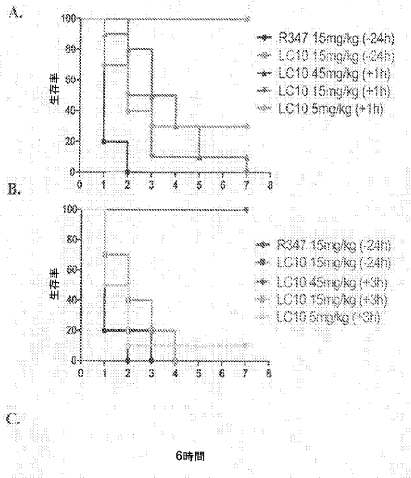


図25

【図２６】

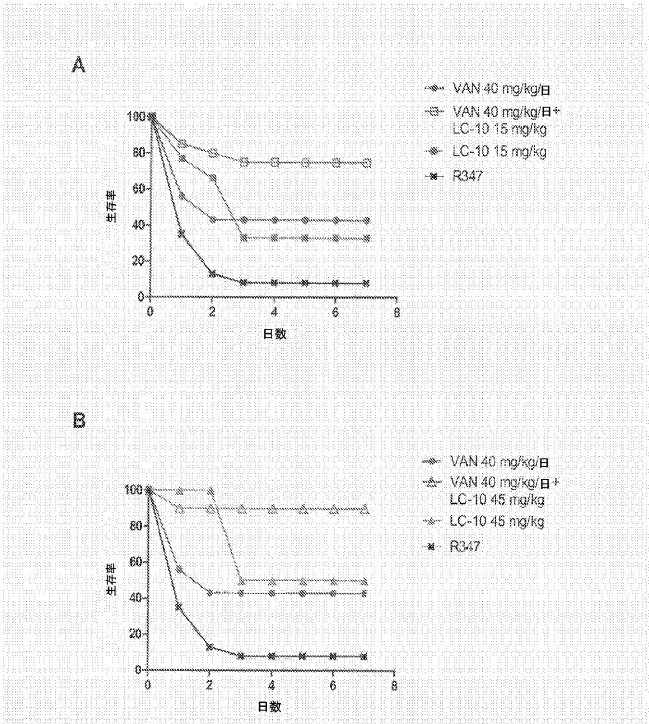


図26

【図２７】

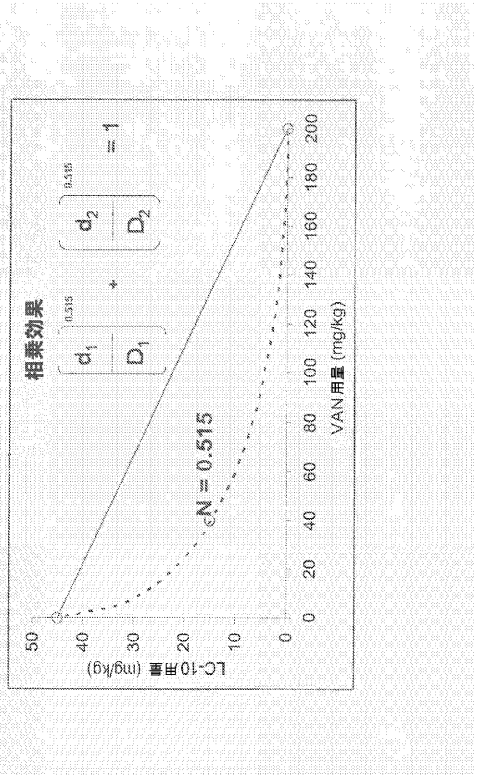


図27

【配列表】
2019011329000001.app
【手続補正書】
【提出日】平成30年8月2日(2018.8.2)
【手続補正１】
【補正対象書類名】特許請求の範囲
【補正対象項目名】全文
【補正方法】変更
【補正の内容】
【特許請求の範囲】
【請求項１】
単離抗体又はその抗原結合断片であって、黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ａｕｒｅｕｓ）α毒素ポリペプチドに免疫特異的に結合し、且つ
（ａ）配列番号７のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ１；
（ｂ）配列番号８のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ２；
（ｃ）配列番号６５のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ３；
（ｄ）配列番号１のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ１；
（ｅ）配列番号２のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ２；及び
（ｆ）配列番号６４のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ３
を含む、前記単離抗体又はその抗原結合断片。
【請求項２】
前記単離抗体又はその抗原結合断片のＶＨ及びＶＬは、それぞれ、配列番号４３及び４４のアミノ酸配列を含む、請求項１に記載の単離抗体又はその抗原結合断片。
【請求項３】
前記単離抗体又はその抗原結合断片が、黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕ

ｓ　ａｕｒｅｕｓ）α毒素ポリペプチドに免疫特異的に結合し、且つ
（ａ）１３ｎＭ以下のα毒素に対する親和性定数（K_D）；
（ｂ）α毒素モノマーに結合するが、α毒素のα毒素受容体との結合は阻害しない；
（ｃ）α毒素オリゴマーの形成を少なくとも５０％、６０％、７０％、８０％、９０％、又は９５％阻害する；
（ｄ）α毒素細胞溶解活性を少なくとも５０％、６０％、７０％、８０％、９０％、又は９５％低下させる；及び
（ｅ）細胞浸潤及び炎症誘発性サイトカイン放出を低下させる；
からなる群から選択される特性の１つ以上を有する、請求項１又は２に記載の抗体又は抗原結合断片。
【請求項４】
請求項３の前記（ｄ）におけるα毒素細胞溶解活性が、細胞溶解及び溶血アッセイにより決定されるものである、及び／又は
請求項３の前記（ｅ）細胞浸潤及び炎症誘発性サイトカイン放出の低下が動物肺炎モデルにおける低下である、
請求項３に記載の抗体又は抗原結合断片。
【請求項５】
請求項１～４のいずれか１項に記載の抗体又は抗原結合断片を含む組成物。
【請求項６】
前記組成物がさらなる薬剤を含み、前記さらなる薬剤が抗生物質である、請求項５に記載の組成物。
【請求項７】
（ａ）請求項１～４のいずれか１項に記載の抗体若しくは抗原結合断片又は請求項５若しくは６に記載の組成物；
（ｂ）前記抗体若しくは抗原結合断片又は組成物の使用説明書又は前記抗体若しくは抗原結合断片又は組成物の使用説明書の入手方法指図書
を含むキット。
【請求項８】
対象における肺炎の予防、治療又は管理のための、請求項１～４のいずれか１項に記載の抗体若しくは抗原結合断片又は請求項５若しくは６に記載の組成物又は請求項７に記載のキット。
【請求項９】
対象における皮膚感染病態の予防、治療又は管理のための、請求項１～４のいずれか１項に記載の抗体若しくは抗原結合断片又は請求項５若しくは６に記載の組成物又は請求項７に記載のキット。
【請求項１０】
配列番号３９の黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ａｕｒｅｕｓ）α毒素断片に免疫特異的に結合する単離抗体又はその抗原結合断片であって、前記抗体又はその抗原結合断片が、
（ａ）配列番号３９のアミノ酸２６１～２７２；
（ｂ）配列番号３９のアミノ酸１７３～２０１；
（ｃ）配列番号３９のアミノ酸２６１～２７２及び配列番号３９のアミノ酸１７３～２０１；又は
（ｄ）配列番号３９のアミノ酸２４８～２７７
を含む断片に結合する、前記単離抗体又は抗原結合断片。
【請求項１１】
前記抗体又はその抗原結合断片が、配列番号３９の残基Ｔ２６１、Ｔ２６３、Ｎ２６４、Ｋ２６６及びＫ２７１と接触する、配列番号３９の残基Ｎ１７７、Ｗ１７９、Ｇ１８０、Ｐ１８１、Ｙ１８２、Ｄ１８３、Ｄ１８５、Ｓ１８６、Ｗ１８７、Ｎ１８８、Ｐ１８９、Ｖ１９０、Ｙ１９１及びＲ２００と接触する、又は配列番号３９の残基Ｔ２６１、Ｔ２

６３、Ｎ２６４、Ｋ２６６、Ｋ２７１、Ｎ１７７、Ｗ１７９、Ｇ１８０、Ｐ１８１、Ｙ１８２、Ｄ１８３、Ｄ１８５、Ｓ１８６、Ｗ１８７、Ｎ１８８、Ｐ１８９、Ｖ１９０、Ｙ１９１及びＲ２００と接触する、請求項１０に記載の単離抗体又は抗原結合断片。

【請求項１２】

配列番号３９の黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ａｕｒｅｕｓ）α毒素断片に免疫特異的に結合する単離抗体又はその抗原結合断片であって、前記抗体又はその抗原結合断片が、配列番号３９の残基Ｔ２６１、Ｔ２６３、Ｎ２６４、Ｋ２６６及びＫ２７１と接触する、配列番号３９の残基Ｎ１７７、Ｗ１７９、Ｇ１８０、Ｐ１８１、Ｙ１８２、Ｄ１８３、Ｄ１８５、Ｓ１８６、Ｗ１８７、Ｎ１８８、Ｐ１８９、Ｖ１９０、Ｙ１９１及びＲ２００と接触する、又は配列番号３９の残基Ｔ２６１、Ｔ２６３、Ｎ２６４、Ｋ２６６、Ｋ２７１、Ｎ１７７、Ｗ１７９、Ｇ１８０、Ｐ１８１、Ｙ１８２、Ｄ１８３、Ｄ１８５、Ｓ１８６、Ｗ１８７、Ｎ１８８、Ｐ１８９、Ｖ１９０、Ｙ１９１及びＲ２００と接触する、前記抗体若しくは抗原結合断片。

【請求項１３】

黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ａｕｒｅｕｓ）α毒素に免疫特異的に結合する単離抗体又はその抗原結合断片であって、前記抗体又はその抗原結合断片がα毒素のヘプタマー形成を阻止し、及び前記抗体又は抗原結合断片が、配列番号３９のＴ２６１、Ｔ２６３、Ｎ２６４、Ｋ２６６、Ｋ２７１、Ｎ１７７、Ｗ１７９、Ｇ１８０、Ｐ１８１、Ｙ１８２、Ｄ１８３、Ｄ１８５、Ｓ１８６、Ｗ１８７、Ｎ１８８、Ｐ１８９、Ｖ１９０、Ｙ１９１及びＲ２００からなる群から選択される１つ以上の残基と接触する、前記抗体若しくは抗原結合断片。

【請求項１４】

前記抗生物質がバンコマイシンである、請求項６、８若しくは９に記載の組成物又は請求項７に記載のキット。

【請求項１５】

α毒素オリゴマーの形成を阻害する方法であって、α毒素と黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ａｕｒｅｕｓ）α毒素に免疫特異的に結合する単離抗体又はその抗原結合断片とを接触させる工程を含み、前記単離抗体又はその抗原結合断片が、配列番号３９の残基Ｔ２６１、Ｔ２６３、Ｎ２６４、Ｋ２６６及びＫ２７１、Ｎ１７７、Ｗ１７９、Ｇ１８０、Ｐ１８１、Ｙ１８２、Ｄ１８３、Ｄ１８５、Ｓ１８６、Ｗ１８７、Ｎ１８８、Ｐ１８９、Ｖ１９０、Ｙ１９１及びＲ２００からなる群より選択される１以上の残基と接触する、配列番号３９の残基Ｔ２６１、Ｔ２６３、Ｎ２６４、Ｋ２６６、及びＫ２７１と接触する、又は配列番号３９の残基Ｔ２６１、Ｔ２６３、Ｎ２６４、Ｋ２６６、Ｋ２７１、Ｎ１７７、Ｗ１７９、Ｇ１８０、Ｐ１８１、Ｙ１８２、Ｄ１８３、Ｄ１８５、Ｓ１８６、Ｗ１８７、Ｎ１８８、Ｐ１８９、Ｖ１９０、Ｙ１９１及びＲ２００と接触する、前記方法。

【請求項１６】

単離抗体又はその抗原結合断片であって、黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ａｕｒｅｕｓ）α毒素ポリペプチドに免疫特異的に結合し、且つ

（ａ）配列番号６９のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ１；

（ｂ）配列番号７０のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ２；

（ｃ）配列番号７１のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ３；

（ｄ）配列番号１のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ１；

（ｅ）配列番号２のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ２；及び

（ｆ）配列番号６８のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ３

を含む、前記単離抗体又はその抗原結合断片。

【手続補正２】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】０４０４

【補正方法】変更

【補正の内容】
【０４０４】
本明細書における特定の実施形態は、以下の特許請求の範囲に記載される。
本発明は以下の実施形態を包含する。
[１] 精製／単離抗体又は抗体の断片であって、黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ ａｕｒｅｕｓ）α毒素ポリペプチドに免疫特異的に結合し、且つ
（ａ）配列番号７、１０、１３又は６９と同一の、又はそれと比べて１、２、又は３個のアミノ酸残基置換を含むアミノ酸配列を含むＶＨ ＣＤＲ１；
（ｂ）配列番号８、１１、１４、１７、７０又は７５と同一の、又はそれと比べて１、２、又は３個のアミノ酸残基置換を含むアミノ酸配列を含むＶＨ ＣＤＲ２、及び
（ｃ）配列番号９、１２、１５、１８、１６、６５、６６、６７、７１、７２、７６又は７８と同一の、又はそれと比べて１、２、又は３個のアミノ酸残基置換を含むアミノ酸配列を含むＶＨ ＣＤＲ３
を含む抗体又は断片。
[２] 前記ＶＨ ＣＤＲ１、ＶＨ ＣＤＲ２及びＶＨ ＣＤＲ３が、配列番号７、８及び９；配列番号１０、１１及び１２；配列番号１３、１４及び１５；配列番号７、１７及び１８；配列番号７、８及び１６；配列番号７、８及び６５；配列番号７、８及び６６；配列番号７、８、及び６７；配列番号７、８及び７８；配列番号６９、７０及び７１；配列番号７、８及び７２；配列番号６９、７５及び７１；配列番号６９、７５及び７６；又は配列番号６９、７０及び７１により表される、実施形態１に記載の抗体又は抗原結合断片。
[３] 単離抗体又はその抗原結合断片であって、黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ ａｕｒｅｕｓ）α毒素ポリペプチドに免疫特異的に結合し、且つ
（ａ）配列番号７、１０、１３又は６９のアミノ酸配列を含むＶＨ ＣＤＲ１；
（ｂ）配列番号８、１１、１４、１７、７０又は７５のアミノ酸配列を含むＶＨ ＣＤＲ２；
（ｃ）配列番号９、１２、１５、１８、１６、６５、６６、６７、７１、７２、７６又は７８のアミノ酸配列を含むＶＨ ＣＤＲ３；
（ｄ）配列番号１又は４のアミノ酸配列を含むＶＬ ＣＤＲ１；
（ｅ）配列番号２、５、７３又は７７のアミノ酸配列を含むＶＬ ＣＤＲ２；及び
（ｆ）配列番号３、６、６４、６８又は７４のアミノ酸配列を含むＶＬ ＣＤＲ３
を含む単離抗体又はその抗原結合断片。
[４] 前記ＶＨ ＣＤＲ１、ＶＨ ＣＤＲ２、ＶＨ ＣＤＲ３、ＶＬ ＣＤＲ１、ＶＬ ＣＤＲ２及びＶＬ ＣＤＲ３が、配列番号７、８、９、１、２及び３；配列番号１０、１１、１２、１、２及び３；配列番号１３、１４、１５、４、５及び６；配列番号７、１７、１８、１、２及び３；配列番号７、８、１６、１、２及び６４；配列番号７、８、６５、１、２及び６４；配列番号７、８、６６、１、２及び６４；配列番号７、８、６７、１、２及び６８；配列番号７、８、６７、１、２及び６４；配列番号７、８、７８、１、２及び６４；配列番号７、８、６５、１、２及び６８；配列番号６９、７０、７１、１、２及び６８；配列番号７、８、７２、１、７３及び７４；配列番号６９、７５、７１、１、２及び６８；配列番号６９、７５、７６、１、２及び６８；配列番号６９、７５、７６、１、７７及び７４；配列番号６９、７０、７１、１、７７及び７４のアミノ酸配列に対応する、実施形態３に記載の抗体又は抗原結合断片。
[５] 前記単離抗体又はその抗原結合断片が、（ｉ）３つのＣＤＲを含むＶＨ鎖ドメインと３つのＣＤＲを含むＶＬ鎖ドメインとを含み；及び（ｉｉ）黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ ａｕｒｅｕｓ）α毒素ポリペプチドに免疫特異的に結合し、前記ＶＨ鎖ドメインの前記３つのＣＤＲが、
（ａ）配列番号７、１０、１３又は６９のアミノ酸配列を含むＶＨ ＣＤＲ１；
（ｂ）配列番号８、１１、１４、１７、７０又は７５のアミノ酸配列を含むＶＨ ＣＤＲ２；及び

（ｃ）配列番号９、１２、１５、１８、１６、６５、６６、６７、７１、７２、７６又は７８のアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ３
を含む、実施形態１に記載の単離抗体又はその抗原結合断片。
[６]　前記ＶＨ　ＣＤＲ１、ＶＨ　ＣＤＲ２及びＶＨ　ＣＤＲ３が、配列番号７、８及び９；配列番号１０、１１及び１２；配列番号１３、１４及び１５；配列番号７、１７及び１８；配列番号７、８及び１６；配列番号７、８及び６５；配列番号７、８及び６６；配列番号７、８、及び６７；配列番号７、８及び７８；配列番号６９、７０及び７１；配列番号７、８及び７２；配列番号６９、７５及び７１；配列番号６９、７５及び７６；又は配列番号６９、７０及び７１のアミノ酸配列に対応する、実施形態５に記載の抗体又は抗原結合断片。
[７]　前記単離抗体又はその抗原結合断片が、（ｉ）３つのＣＤＲを含むＶＨ鎖ドメインと３つのＣＤＲを含むＶＬ鎖ドメインとを含み；及び（ｉｉ）黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ａｕｒｅｕｓ）α毒素ポリペプチドに免疫特異的に結合し、前記ＶＬ鎖ドメインの前記３つのＣＤＲが、
（ａ）配列番号１又は４のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ１；
（ｂ）配列番号２、５、７３又は７７のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ２；及び
（ｃ）配列番号３、６、６４、６８又は７４のアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ３
を含む、実施形態１に記載の単離抗体又はその抗原結合断片。
[８]　前記ＶＬ　ＣＤＲ１、ＶＬ　ＣＤＲ２及びＶＬ　ＣＤＲ３が、配列番号１、２及び３；配列番号４、５及び６；配列番号１、２及び６４；配列番号１、２及び６８；配列番号１、７３及び７４；又は配列番号１、７７及び７４のアミノ酸配列に対応する、実施形態７に記載の抗体又は抗原結合断片。
[９]　（ｉ）黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ａｕｒｅｕｓ）α毒素ポリペプチドに免疫特異的に結合し、（ｉｉ）配列番号２０、２２、２４、２６、２８、４１、４３、４５、４７、４９、５１、５３、５５、５７、７９、５９、６１、又は６２のアミノ酸配列と少なくとも９０％の同一性を有する重鎖可変ドメインを含み、及び（ｉｉｉ）配列番号１９、２１、２３、２５、２７、４２、４４、４６、４８、５０、５２、５４、５６、５８、６０又は６３のアミノ酸配列と少なくとも９０％の同一性を有する軽鎖可変ドメインを含む単離抗体又はその抗原結合断片。
[１０]　前記ＶＨ及びＶＬが、配列番号２０及び１９；配列番号２２及び２１；配列番号２４及び２３；配列番号２６及び２５；配列番号２８及び２７；配列番号４１及び４２；配列番号４３及び４４；配列番号４５及び４６；配列番号４７及び４８；配列番号４７及び４８；配列番号４９及び５０；配列番号５１及び５２；配列番号５１及び５２；配列番号５３及び５４；配列番号５５及び５６；配列番号５７及び５８；配列番号５９及び６０；配列番号６１及び５８；配列番号６２及び５８；配列番号６２及び６３；配列番号７９及び６３のアミノ酸配列に対応する、実施形態９に記載の抗体又は抗原結合断片。
[１１]　単離抗体又はその抗原結合断片であって、配列番号２０、２２、２４、２６、２８、４１、４３、４５、４７、４９、５１、５３、５５、５７、７９、５９、６１、又は６２の重鎖可変ドメインと、配列番号１９、２１、２３、２５、２７、４２、４４、４６、４８、５０、５２、５４、５６、５８、６０又は６３の軽鎖可変ドメインとを含む単離抗体又はその抗原結合断片。
[１２]　前記ＶＨ及びＶＬが、配列番号２０及び１９；配列番号２２及び２１；配列番号２４及び２３；配列番号２６及び２５；配列番号２８及び２７；配列番号４１及び４２；配列番号４３及び４４；配列番号４５及び４６；配列番号４７及び４８；配列番号４７及び４８；配列番号４９及び５０；配列番号５１及び５２；配列番号５１及び５２；配列番号５３及び５４；配列番号５５及び５６；配列番号５７及び５８；配列番号５９及び６０；配列番号６１及び５８；配列番号６２及び５８；配列番号６２及び６３；配列番号７９及び６３のアミノ酸配列に対応する、実施形態１１に記載の抗体又は抗原結合断片。
[１３]　前記単離抗体又はその抗原結合断片が、黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ａｕｒｅｕｓ）α毒素ポリペプチドに免疫特異的に結合し、且つ

（ａ）約１３ｎＭ以下のα毒素に対する親和性定数（K_D）；
（ｂ）α毒素モノマーに結合するが、α毒素のα毒素受容体との結合は阻害しない；
（ｃ）α毒素オリゴマーの形成を少なくとも５０％、６０％、７０％、８０％、９０％、又は９５％阻害する；
（ｄ）α毒素細胞溶解活性を（例えば、細胞溶解及び溶血アッセイにより決定されるとき）少なくとも５０％、６０％、７０％、８０％、９０％、又は９５％低下させる；及び
（ｅ）細胞浸潤及び炎症誘発性サイトカイン放出を（例えば、動物肺炎モデルにおいて）低下させる
からなる群から選択される特性の１つ以上を有する、実施形態１～１２のいずれかに記載の抗体又は抗原結合断片。
[１４] 前記単離抗体又はその抗原結合断片がさらなる薬剤を含む、実施形態１～１３のいずれかに記載の抗体又は抗原結合断片。
[１５] 前記さらなる薬剤が抗生物質である、実施形態１４に記載の抗体又は抗原結合断片。
[１６] 前記単離抗体又はその抗原結合断片が、前記治療剤にリンカーを介して連結される、実施形態１４に記載の抗体又は抗原結合断片。
[１７] 前記単離抗体又はその抗原結合断片が診断用薬剤をさらに含む、実施形態１～１３のいずれかに記載の抗体又は抗原結合断片。
[１８] 前記診断用薬剤が造影剤を含む、実施形態１７に記載の抗体又は抗原結合断片。
[１９] 前記診断用薬剤が検出可能標識を含む、実施形態１７に記載の抗体又は抗原結合断片。
[２０] 前記単離抗体又はその抗原結合断片が、前記診断用薬剤にリンカーを介して連結される、実施形態１７に記載の抗体又は抗原結合断片。
[２１] 前記黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ ａｕｒｅｕｓ）α毒素ポリペプチドが天然の毒素ポリペプチドである、実施形態１～２０のいずれかに記載の抗体又は抗原結合断片。
[２２] 前記黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ ａｕｒｅｕｓ）α毒素ポリペプチドが、配列番号３９又は配列番号４０のアミノ酸配列を含む、実施形態１～２０のいずれかに記載の抗体又は抗原結合断片。
[２３] 前記細胞が血液又は肺由来である、実施形態Ａ１３に記載の抗体又は抗原結合断片。
[２４] 前記血液由来の細胞が赤血球細胞である、実施形態２３に記載の抗体又は抗原結合断片。
[２５] 前記細胞溶解が溶血インビトロアッセイ又は乳酸デヒドロゲナーゼインビトロアッセイにより決定される、実施形態１３、２３又は２４のいずれかに記載の抗体又は抗原結合断片。
[２６] 前記単離抗体又はその抗原結合断片が、黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ ａｕｒｅｕｓ）α毒素ポリペプチドに免疫特異的に結合し、且つ配列番号９、１２、１５、１８、１６、６５、６６、６７、７１、７２、７６又は７８と同一の、又はそれと比べて１、２、又は３個のアミノ酸残基置換を含むアミノ酸配列を含むＶＨ ＣＤＲ３を含み、前記抗体又は抗原結合断片が、前記黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ ａｕｒｅｕｓ）α毒素ポリペプチドを中和する、実施形態１～２５のいずれかに記載の抗体又は抗原結合断片。
[２７] 前記単離抗体又はその抗原結合断片が、黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ ａｕｒｅｕｓ）α毒素ポリペプチドに免疫特異的に結合し、且つ配列番号３、６、６４、６８又は７４と同一の、又はそれと比べて１、２、又は３個のアミノ酸残基置換を含むアミノ酸配列を含むＶＬ ＣＤＲ３を含み、前記抗体又は抗原結合断片が、黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ ａｕｒｅｕｓ）α毒素ポリペプチドを中和する、実施形態１～２６のいずれかに記載の抗体又は抗原結合断片。

[２８] 前記単離抗体又はその抗原結合断片が、黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ａｕｒｅｕｓ）α毒素ポリペプチドに免疫特異的に結合し、且つ配列番号９、１２、１５、１８、１６、６５、６６、６７、７１、７２、７６又は７８と同一の、又はそれと比べて１、２、又は３個のアミノ酸残基置換を含むアミノ酸配列を含むＶＨ　ＣＤＲ３を含み、前記抗体又は抗原結合断片が、黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ａｕｒｅｕｓ）α毒素ポリペプチドのオリゴマー形成を阻害する、実施形態１～２７のいずれかに記載の抗体又は抗原結合断片。

[２９] 前記単離抗体又はその抗原結合断片が、黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ａｕｒｅｕｓ）α毒素ポリペプチドに免疫特異的に結合し、且つ配列番号３、６、６４、６８又は７４と同一の、又はそれと比べて１、２、又は３個のアミノ酸残基置換を含むアミノ酸配列を含むＶＬ　ＣＤＲ３を含み、前記抗体又は抗原結合断片が、黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ａｕｒｅｕｓ）α毒素ポリペプチドのオリゴマー形成を阻害する、実施形態１～２８のいずれかに記載の抗体又は抗原結合断片。

[３０] 前記オリゴマー形成の阻害が、インビトロ結合及び／又は電気泳動移動度アッセイにより決定される、実施形態１３、２８又は２９のいずれかに記載の抗体又は抗原結合断片。

[３１] 実施形態１～３０のいずれかに記載の抗体又は抗原結合断片を含む組成物。

[３２] （ａ）実施形態１～３０のいずれかに記載の抗体若しくは抗原結合断片又は実施形態３１に記載の組成物；

（ｂ）前記組成物の使用説明書又は前記組成物の使用説明書の入手方法指図書

を含むキット。

[３３] 前記組成物中の前記抗体が、固体担体に連結されている、実施形態３２に記載のキット。

[３４] 前記固体担体がビーズである、実施形態３３に記載のキット。

[３５] 前記ビーズがセファロースビーズである、実施形態３４に記載のキット。

[３６] 前記使用説明書が、黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ａｕｒｅｕｓ）α毒素ポリペプチドの単離、精製、検出及び定量化の１つ以上を収録している、実施形態３２～３５のいずれかに記載のキット。

[３７] 緩衝液、固体担体又は緩衝液及び固体担体を含む、実施形態３２～３６のいずれかに記載のキット。

[３８] 前記固体担体が、ビーズ、フィルター、膜及びマルチウォールプレート（ｍｕｌｔｉｗａｌｌ　ｐｌａｔｅ）の１つ以上である、実施形態３７に記載のキット。

[３９] ウエスタンブロットに好適な緩衝液及び膜を含む、実施形態３７に記載のキット。

[４０] 負荷緩衝液と溶出緩衝液とを含む、実施形態３７に記載のキット。

[４１] 酵素結合免疫吸着（ｅｎｚｙｍｅ－ｌｉｎｋｅｄ　ｉｍｍｕｎｏｓｏｒｂａｎｔ）アッセイ（ＥＬＩＳＡ）に好適な緩衝液を含む、実施形態３７に記載のキット。

[４２] 対象における肺炎の予防、治療又は管理方法であって、

実施形態１～３０のいずれかに記載の抗体若しくは抗原結合断片又は実施形態３１に記載の組成物を、それを必要とする対象に対し、肺炎を予防、治療又は管理するのに有効な量で投与するステップ

を含む方法。

[４３] 肺炎の予防方法である、実施形態４２に記載の方法。

[４４] 前記抗体又はその抗原結合断片が、配列番号３９内の立体構造エピトープに免疫特異的に結合する、実施形態４２又は４３に記載の方法。

[４５] 対象における皮膚感染病態の予防、治療又は管理方法であって、黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ａｕｒｅｕｓ）α毒素ポリペプチドに免疫特異的に結合する抗体又はその抗原結合断片を、それを必要とする対象に対し、皮膚感染病態を予防、治療又は管理するのに有効な量で投与するステップを含む方法。

[４６] 前記皮膚感染病態が皮膚壊死である、実施形態４５に記載の方法。
[４７] 前記皮膚感染病態が、皮膚の黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ ａｕｒｅｕｓ）感染を含む、実施形態４５又は４６に記載の方法。
[４８] 皮膚感染病態の予防方法である、実施形態４５～４７のいずれかに記載の方法。

[４９] 黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ ａｕｒｅｕｓ）感染に関連する病態の予防、治療又は管理方法であって、黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ ａｕｒｅｕｓ）α毒素ポリペプチドに免疫特異的に結合する抗体又はその抗原結合断片を、それを必要とする対象に対し、毒素ポリペプチドのオリゴマー形成を低減するのに有効な量で投与するステップを含む方法。
[５０] 黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ ａｕｒｅｕｓ）感染に関連する病態の予防方法である、実施形態４９に記載の方法。
[５１] 黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ ａｕｒｅｕｓ）感染に関連する病態の予防、治療又は管理方法であって、黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ ａｕｒｅｕｓ）α毒素ポリペプチドに免疫特異的に結合する抗体又はその抗原結合断片を、それを必要とする対象に対し、赤血球の溶解を低減するのに有効な量で投与するステップを含む方法。
[５２] 黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ ａｕｒｅｕｓ）感染に関連する病態の予防方法である、実施形態５１に記載の方法。
[５３] 前記赤血球が血液又は肺由来の細胞である、実施形態５１又は５２に記載の方法。
[５４] 前記抗体又はその抗原結合断片が、
（ａ）約１３ｎＭ以下のα毒素に対する親和性定数（K_D）；
（ｂ）α毒素モノマーに結合するが、α毒素のα毒素受容体との結合は阻害しない；
（ｃ）α毒素オリゴマーの形成を少なくとも５０％、６０％、７０％、８０％、９０％、又は９５％阻害する；
（ｄ）α毒素細胞溶解活性を（例えば、細胞溶解及び溶血アッセイにより決定されるとき）少なくとも５０％、６０％、７０％、８０％、９０％、又は９５％低下させる；及び
（ｅ）細胞浸潤及び炎症誘発性サイトカイン放出を（例えば、動物肺炎モデルにおいて）低下させる
からなる群から選択される特性の１つ以上を有する、実施形態４５～５３のいずれかに記載の方法。
[５５] 前記抗体又はその抗原結合断片が、配列番号３９内の立体構造エピトープに免疫特異的に結合する、実施形態５４に記載の方法。
[５６] 前記対象に投与される前記抗体若しくは抗原結合断片又は組成物が、実施形態１～３０のいずれか又は実施形態３１に記載の組成物に従う、実施形態４２～５５のいずれかに記載の方法。
[５７] 実施形態１～３０のいずれかに記載の抗体若しくは抗原結合断片又は実施形態３１に記載の組成物を細胞に投与するステップ；及び
前記細胞への前記組成物の投与に関連する生物学的作用の存在、非存在又は量を検出するステップ
を含む方法。
[５８] 実施形態１～３０のいずれかに記載の抗体若しくは抗原結合断片又は実施形態３１に記載の組成物を対象に投与するステップ；及び
前記組成物の投与に関連する前記対象における生物学的作用の存在、非存在又は量を検出するステップ
を含む方法。
[５９] 実施形態１～３０のいずれかに記載の抗体若しくは抗原結合断片又は実施形態３１に記載の組成物を対象に投与するステップ；及び
前記対象の状態をモニタするステップ

を含む方法。
[６０] 黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ ａｕｒｅｕｓ）α毒素ポリペプチドの中和方法であって、それを必要とする対象に対し、有効量の実施形態１～３０のいずれかに記載の抗体若しくは抗原結合断片又は実施形態３１に記載の組成物を投与して前記毒素ポリペプチドを中和することによる、方法。
[６１] 必要とする対象において黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ ａｕｒｅｕｓ）α毒素によって媒介される病態を予防、治療、又は管理する方法であって、有効量の実施形態１～３０のいずれかに記載の抗体若しくは抗原結合断片又は実施形態３１に記載の組成物を前記対象に投与して前記病態を予防、治療又は管理するステップを含む方法。
[６２] 必要とする対象において黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ ａｕｒｅｕｓ）α毒素によって媒介される障害の症状を治療、予防又は緩和する方法であって、有効量の実施形態１～３０のいずれかに記載の抗体若しくは抗原結合断片又は実施形態３１に記載の組成物を前記対象に投与して前記症状を治療、予防又は緩和するステップを含む方法。
[６３] 対象において黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ ａｕｒｅｕｓ）α毒素によって媒介される病態を診断する方法であって、診断を必要とする対象を選択するステップと、診断上有効な用量の実施形態１～３０のいずれかに記載の抗体若しくは抗原結合断片又は実施形態３１に記載の組成物を前記対象に投与するステップとを含む方法。
[６４] 前記対象が家畜である、実施形態４２～６３のいずれかに記載の方法。
[６５] 前記対象がヒトである、実施形態４２～６３のいずれかに記載の方法。
[６６] 実施形態１～３０のいずれかに記載の抗体若しくは抗原結合断片又は実施形態３１に記載の組成物により黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ ａｕｒｅｕｓ）α毒素オリゴマーの形成を少なくとも５０％、６０％、７０％、８０％、９０％又は９５％阻害する方法。
[６７] 前記黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ ａｕｒｅｕｓ）α毒素オリゴマーの形成の阻害が、活性な膜孔形成複合体の形成を阻害する、実施形態６６に記載の方法。
[６８] 実施形態１～３０のいずれかに記載の抗体若しくは抗原結合断片又は実施形態３１に記載の組成物により黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ ａｕｒｅｕｓ）α毒素細胞溶解活性を少なくとも５０％、６０％、７０％、８０％、９０％、又は９５％低下させる方法であって、前記細胞溶解活性が細胞溶解及び／又は溶血アッセイにより決定される、方法。
[６９] 配列番号３９の黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ ａｕｒｅｕｓ）α毒素の断片に免疫特異的に結合する単離抗体又はその抗原結合断片。
[７０] 前記抗体又はその抗原結合断片が、配列番号３９のアミノ酸２６１～２７２を含む断片に結合する、実施形態６９に記載の単離抗体又は抗原結合断片。
[７１] 前記抗体又はその抗原結合断片が、配列番号３９の残基Ｔ２６１、Ｔ２６３、Ｎ２６４、Ｋ２６６及びＫ２７１と接触する、実施形態６９又は７０に記載の単離抗体又は抗原結合断片。
[７２] 前記抗体又はその抗原結合断片が、配列番号３９のアミノ酸１７３～２０１を含む断片に結合する、実施形態６９又は７０に記載の単離抗体又はその抗原結合断片。
[７３] 前記抗体又はその抗原結合断片が、配列番号３９の残基Ｎ１７７、Ｗ１７９、Ｇ１８０、Ｐ１８１、Ｙ１８２、Ｄ１８３、Ｄ１８５、Ｓ１８６、Ｗ１８７、Ｎ１８８、Ｐ１８９、Ｖ１９０、Ｙ１９１及びＲ２００と接触する、実施形態６９又は７２に記載の単離抗体又はその抗原結合断片。
[７４] 前記抗体又はその抗原結合断片が、配列番号３９の残基Ｔ２６１、Ｔ２６３、Ｎ２６４、Ｋ２６６、Ｋ２７１、Ｎ１７７、Ｗ１７９、Ｇ１８０、Ｐ１８１、Ｙ１８２、Ｄ１８３、Ｄ１８５、Ｓ１８６、Ｗ１８７、Ｎ１８８、Ｐ１８９、Ｖ１９０、Ｙ１９１及び

Ｒ２００と接触する、実施形態６９～７３のいずれかに記載の単離抗体又はその抗原結合断片。

[７５] 黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ａｕｒｅｕｓ）α毒素の断片に免疫特異的に結合する単離抗体又はその抗原結合断片であって、配列番号３９のアミノ酸２４８～２７７を含む断片に結合する抗体又はその抗原結合断片。

[７６] 黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ａｕｒｅｕｓ）α毒素と免疫特異的に結合する単離抗体又はその抗原結合断片であって、前記抗体又はその抗原結合断片がα毒素のヘプタマー形成を阻止し、及び前記抗体又は抗原結合断片が、配列番号３９のＴ２６１、Ｔ２６３、Ｎ２６４、Ｋ２６６、Ｋ２７１、Ｎ１７７、Ｗ１７９、Ｇ１８０、Ｐ１８１、Ｙ１８２、Ｄ１８３、Ｄ１８５、Ｓ１８６、Ｗ１８７、Ｎ１８８、Ｐ１８９、Ｖ１９０、Ｙ１９１及びＲ２００からなる群から選択される１つ以上の残基と接触する、単離抗体又はその抗原結合断片。

[７７] 肺炎の治療方法である、実施形態４２に記載の方法。

[７８] 皮膚感染病態の治療方法である、実施形態４５～４７のいずれかに記載の方法。

[７９] 黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ａｕｒｅｕｓ）感染に関連する病態の治療方法である、実施形態４９に記載の方法。

[８０] 前記抗生物質がバンコマイシンである、実施形態１５に記載の抗体又は抗原結合断片。

[８１] α毒素オリゴマーの形成を阻害する方法であって、α毒素モノマーを、黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ａｕｒｅｕｓ）α毒素と免疫特異的に結合する単離抗体又はその抗原結合断片に接触させるステップを含む方法において、前記抗体又は抗原結合断片が、配列番号３９のＴ２６１、Ｔ２６３、Ｎ２６４、Ｋ２６６、Ｋ２７１、Ｎ１７７、Ｗ１７９、Ｇ１８０、Ｐ１８１、Ｙ１８２、Ｄ１８３、Ｄ１８５、Ｓ１８６、Ｗ１８７、Ｎ１８８、Ｐ１８９、Ｖ１９０、Ｙ１９１及びＲ２００からなる群から選択される１つ以上の残基と接触する。

[８２] 前記抗体又はその抗原結合断片が、Ｔ２６１、Ｔ２６３、Ｎ２６４、Ｋ２６６及びＫ２７１と接触する、実施形態８１に記載の方法。

[８３] 前記抗体又はその抗原結合断片が、Ｎ１７７、Ｗ１７９、Ｇ１８０、Ｐ１８１、Ｙ１８２、Ｄ１８３、Ｄ１８５、Ｓ１８６、Ｗ１８７、Ｎ１８８、Ｐ１８９、Ｖ１９０、Ｙ１９１及びＲ２００とさらに接触する、実施形態８２に記載の方法。

[８４] Ｆｃ変異領域を有する単離抗体又はその抗原結合断片であって、配列番号ＸＸ及び配列番号ＹＹを含む単離抗体。

フロントページの続き

(51)Int.Cl.			F I			テーマコード（参考）
A61K	*38/14*	*(2006.01)*	A61K	38/14		
A61P	*31/04*	*(2006.01)*	A61P	31/04		
A61P	*11/00*	*(2006.01)*	A61P	11/00		
A61P	*17/02*	*(2006.01)*	A61P	17/02		
A61P	*15/14*	*(2006.01)*	A61P	15/14	171	
A61P	*43/00*	*(2006.01)*	A61P	43/00	121	
G01N	*33/53*	*(2006.01)*	G01N	33/53	D	
G01N	*33/569*	*(2006.01)*	G01N	33/569	E	
G01N	*33/545*	*(2006.01)*	G01N	33/545		
C12N	*15/13*	*(2006.01)*	C12N	15/13		
C12P	*21/08*	*(2006.01)*	C12P	21/08		

(72)発明者 セルマン，ブレット
アメリカ合衆国 ２０８７８ メリーランド州，ゲイサーズバーグ，ワン メディミューン ウェイ，メディミューン，エルエルシー
(72)発明者 トカツィク，クリスティーン
アメリカ合衆国 ２０８７８ メリーランド州，ゲイサーズバーグ，ワン メディミューン ウェイ，メディミューン，エルエルシー
(72)発明者 フア，レイ
アメリカ合衆国 ２０８７８ メリーランド州，ゲイサーズバーグ，ワン メディミューン ウェイ，メディミューン，エルエルシー
(72)発明者 チャウダリー，パーサ
アメリカ合衆国 ２０８７８ メリーランド州，ゲイサーズバーグ，ワン メディミューン ウェイ，メディミューン，エルエルシー
(72)発明者 ヴァーキー，リーナ
アメリカ合衆国 ２０８７８ メリーランド州，ゲイサーズバーグ，ワン メディミューン ウェイ，メディミューン，エルエルシー
(72)発明者 ダムシュローダー，メリッサ
アメリカ合衆国 ２０８７８ メリーランド州，ゲイサーズバーグ，ワン メディミューン ウェイ，メディミューン，エルエルシー
(72)発明者 ペン，リー
アメリカ合衆国 ２０８７８ メリーランド州，ゲイサーズバーグ，ワン メディミューン ウェイ，メディミューン，エルエルシー
(72)発明者 オガネスヤン，ヴァエ
アメリカ合衆国 ２０８７８ メリーランド州，ゲイサーズバーグ，ワン メディミューン ウェイ，メディミューン，エルエルシー
(72)発明者 ヒリアード，ジェームズ，ジョンソン
アメリカ合衆国 ２０８７８ メリーランド州，ゲイサーズバーグ，ワン メディミューン ウェイ，メディミューン，エルエルシー

Ｆターム(参考) 4B063 QA05 QQ08 QQ24 QQ79 QR04 QR48 QR77 QS02 QX01
4B064 AG27 CA19 CC24 DA01 DA15
4C084 AA02 BA01 BA09 BA17 BA34 DA44 MA02 NA05 ZA591 ZA592
ZA891 ZA892 ZB351 ZB352 ZC621 ZC622 ZC751
4C085 AA16 BA13 BA43 BB11 CC02 EE01
4H045 AA11 AA20 AA30 BA10 BA62 BA70 BA71 BA72 CA40 DA76
EA20 EA24 EA29 EA52 FA74 GA26

专利名称(译)	与金黄色葡萄球菌α-毒素特异性结合的抗体和使用方法		
公开(公告)号	JP2019011329A	公开(公告)日	2019-01-24
申请号	JP2018127340	申请日	2018-07-04
[标]申请(专利权)人(译)	免疫医疗公司		
申请(专利权)人(译)	MedImmune公司，有限责任公司		
[标]发明人	セルマンブレット トカツィククリスティーン フアレイ チャウダリーパーサ ヴァーキーリーナ ダムシュローダーメリッサ ペンリー オガネスヤンヴァエ ヒリアードジェームズジョンソン		
发明人	セルマン,ブレット トカツィク,クリスティーン フア,レイ チャウダリー,パーサ ヴァーキー,リーナ ダムシュローダー,メリッサ ペン,リー オガネスヤン,ヴァエ ヒリアード,ジェームズ,ジョンソン		
IPC分类号	C07K16/12 C07K17/08 C12Q1/02 A61K39/395 A61K39/40 A61K38/14 A61P31/04 A61P11/00 A61P17/02 A61P15/14 A61P43/00 G01N33/53 G01N33/569 G01N33/545 C12N15/13 C12P21/08		
CPC分类号	A61K2039/505 C07K16/1271 C07K2317/21 C07K2317/24 C07K2317/34 C07K2317/56 C07K2317/76 C07K2317/90 C07K2317/92 G01N33/56938 G01N2333/31 G01N2800/20 G01N2800/44 G01N2800/709 A61K38/14 A61K39/40 A61K45/06 A61P11/00 A61P15/14 A61P17/00 A61P17/02 A61P29/00 A61P31/04 A61P39/02 A61P43/00 C07K2299/00 A61K2300/00		
FI分类号	C07K16/12.ZNA C07K17/08 C12Q1/02 A61K39/395.R A61K39/40 A61K38/14 A61P31/04 A61P11/00 A61P17/02 A61P15/14.171 A61P43/00.121 G01N33/53.D G01N33/569.E G01N33/545 C12N15/13 C12P21/08		
F-TERM分类号	4B063/QA05 4B063/QQ08 4B063/QQ24 4B063/QQ79 4B063/QR04 4B063/QR48 4B063/QR77 4B063/QS02 4B063/QX01 4B064/AG27 4B064/CA19 4B064/CC24 4B064/DA01 4B064/DA15 4C084/AA02 4C084/BA01 4C084/BA09 4C084/BA17 4C084/BA34 4C084/DA44 4C084/MA02 4C084/NA05 4C084/ZA591 4C084/ZA592 4C084/ZA891 4C084/ZA892 4C084/ZB351 4C084/ZB352 4C084/ZC621 4C084/ZC622 4C084/ZC751 4C085/AA16 4C085/BA13 4C085/BA43 4C085/BB11 4C085/CC02 4C085/EE01 4H045/AA11 4H045/AA20 4H045/AA30 4H045/BA10 4H045/BA62 4H045/BA70 4H045/BA71 4H045/BA72 4H045/CA40 4H045/DA76 4H045/EA20 4H045/EA24 4H045/EA29 4H045/EA52 4H045/FA74 4H045/GA26		
优先权	61/440581 2011-02-08 US		
其他公开文献	JP6723293B2		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

要解决的问题：提供与金黄色葡萄球菌α-毒素结合的抗体和片段的组合物，生产方法和使用方法。 纯化/分离的抗体或抗体片段，其免疫特异性结合金黄色葡萄球菌α-毒素多肽，并且（a）结合任何特定的四个氨基酸序列VH CDR1包含与任何其他6种特定氨基酸序列相比相同或包含1,2或3个氨基酸残基取代的氨基酸序列;（b） VH CDR2，其包含含有1,2或3个氨基酸残基取代的氨基酸序列，和（c）与任何其他12种特定氨基酸序列1,2或3相同或相比较包含VH CDR3的抗体或片段，其包含含有氨基酸残基取代的氨基酸序列。 点域1

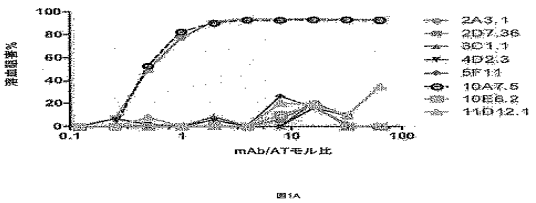


图1A

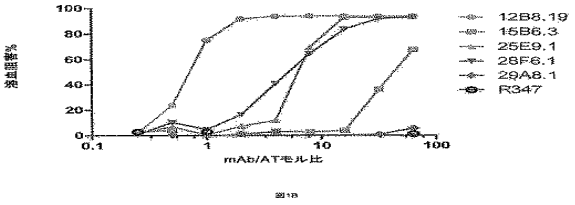


图1B